UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNEE 1947 N° 113

Contribution à l'étude physico-chimique, biologique et bactériologique des Eaux sulfureuses de Luchon et de Barèges

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

(MENTION PHARMACIE)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 7 JUIN 1947

PAR

JEAN-LOUIS BRUGNE

(PHARMACIEN)

EX-PRÉPARATEUR DE BACTÉRIOLOGIE

DIPLOMÉ D'HYDROLOGIE

(FAC. DE BORDEAUX)

●

MEMBRES DU JURY

MM. BRUSTIER	*Président.*
DELAS	*Assesseurs.*
BLANC	
BOUISSET	
ASTRE	*Suppléant.*

●

IMP. MÉNARD

8, RUE DES RÉGANS

TOULOUSE

1947

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1947 N° 113

Contribution à l'étude physico-chimique, biologique et bactériologique des Eaux sulfureuses de Luchon et de Barèges

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

(MENTION PHARMACIE)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 7 JUIN 1947

PAR

JEAN-LOUIS BRUGNE

(PHARMACIEN)

EX-PRÉPARATEUR DE BACTÉRIOLOGIE

DIPLOMÉ D'HYDROLOGIE

(FAC. DE BORDEAUX)

MEMBRES DU JURY

MM. BRUSTIER	*Président.*
DELAS	*Assesseurs.*
BLANC	
BOUISSET	
ASTRE	*Suppléant.*

IMP. MÉNARD

8, RUE DES RÉGANS

TOULOUSE

1947

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
FACULTÉ MIXTE de MÉDECINE et de PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

DOYEN ..... MM. CALVET
ASSESSEUR ..... LEFEBVRE
Doyens honoraires ..... BARDIER, GORSE

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DALOUS, ESCAT, MM. RISPAL, LAFFORGUE, ARGAUD, MM. MOOG, MERIEL, CAUBET, MM. MAURIN, RIBAUT, SERR

PROFESSEURS

Clinique de neurologie et psychiatrie ..... MM. RISER
Clinique médicale ..... TAPIE (J.), ROQUES, GARIPUY
Clinique obstétricale ..... SOULA
Physiologie ..... DUCUING
Clinique chirurgicale du cancer ..... BUGNARD
Physique biologique et médicale ..... NANTA
Clinique des Maladies cutanées et syphilitiques ..... BRUSTIER
Chimie et Toxicologie ..... SENDRAIL
Pathologie générale et médecine expérimentale ..... LEFEBVRE
Clinique chirurgicale et gynécologique ..... VALLOIS
Anatomie ..... CLERMONT
Histoire naturelle ..... DELAS
Clinique médicale infantile et puériculture ..... SOREL R.
Pharmacie ..... CAUJOLLE
Pathologie interne ..... MOREL
Bactériologie, hygiène et médecine sociale ..... ANDRIEU
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie ..... BOULARAN
Clinique des Maladies des Voies urinaires ..... FABRE (P.)
Matière médicale ..... VINCENT
Hydrologie thérapeutique et Climatologie ..... MÉRIEL
Anatomie Pathologique ..... FABRE (J.)
Clinique Oto-rhino-laryngologique et Chirurgie Maxillo-faciale ..... CALVET
Clinique ophtalmologique ..... CALMETTES
Chimie Biologique ..... MONNIER
Médecine légale et Déontologie ..... PLANQUES
Histologie et Embryologie ..... BROUSSY

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Physiologie ..... M. BAISSET, Obstétrique ..... GUILHEM, Anatomie ..... COULOUMA

AGREGES EN EXERCICE

Anatomie ..... MM. LAZORTHES
Histologie ..... BIMES ch. f.
Médecine ..... GADRAT, DARNAUD, GERAUD, DARDENNE, LAPORTE (J.)
Chirurgie ..... VIRENQUE, GRIMOUD, RIEUNAU, DIEULAFE, DAMBRIN (P.)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Ophtalmologie ..... DEODATI
Chimie Médicale ..... VALDIGUIÉ (P.)
Physique médicale ..... MARQUES
Pharmacie ..... COUTURIER
Chimie Générale Pharmaceutique ..... BLANC
Histoire Naturelle Pharmaceutique ..... Mme DULUCQ-MATHOU

COURS COMPLEMENTAIRES

Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes ..... MM. GARIPUY
Cours d'anat. physiol. et pathol aux élèves sages-femmes ..... GUILHEM.
Chimie pathologique ..... VALDIGUIE (P.)
Chimie biologique ..... VALDIGUIE (P.)
Chimie minérale ..... BLANC
Stomatologie ..... CADENAT
Physique pharmaceutique ..... AUVERGNAT
Dermatologie et Syphiligraphie ..... BAZEX
Législation pharmaceutique ..... BOUISSET
Microbiologie ..... BOUISSET
Clinique de la Tuberculose ..... MOREL L., DAMRRIN (P.)
Parasitologie ..... LASSERRE
Botanique et Cryptogamie ..... Mme DULUCQ-MATHOU
Chimie analytique ..... MM. BLANC
Hydrologie et géologie ..... ASTRE
Médecine Sociale et du Travail ..... BOUNHOURE
Anatomie médico-chirurgicale ..... THOMAS
Pharmacodynamie ..... BONHOURE
Bactériologie et Hygiène ..... LAPORTE
Urologie ..... LHEZ
Ophtalmologie ..... DEODATI
Neuro-Chirurgie ..... LAZORTHES
Oto-Rhino Laryngol ..... CLAUX
Secrétaire de la Faculté ..... DUCROS.

Le Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération en date du 12 mai 1891).

À MA FEMME,

Avec toute mon affection

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR BRUSTIER

Professeur de Chimie et de Toxicologie
Officier de la Légion d'Honneur

A MON JURY DE THÈSE

MM. DELAS
BLANC
BOUISSET
ASTRE

"MEIS ET AMICIS"

INTRODUCTION

Nous n'avons pas l'intention dans les pages qui vont suivre, d'étudier d'une façon complète, toutes les propriétés des Eaux sulfureuses des Pyrénées.

Depuis une dizaine d'années, nous avons fait des essais les plus divers sur les propriétés de ces eaux, étudiant tantôt une propriété, tantôt une autre, tantôt plusieurs à la fois. Et ce sont toutes ces observations, recueillies au cours de ces années, que nous avons essayé de grouper dans différents chapitres.

L'ensemble de notre travail peut se résumer ainsi :

1) *Etude des variations de la toxicité de certains poisons sous l'action des eaux sulfureuses de Barèges.*

2) *Etude semblable sur les Eaux de Luchon.*

3) *Les Eaux de Luchon en injections intratissulaires.*

4) *Quelques essais sur les Aérosols d'eau de Luchon.*

5) *Etude des propriétés antibiotiques de la Barégine.*

Avant de commencer ce travail, nous nous devons d'exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui nous ont aidé de leur expérience et de leurs conseils :

M. le Professeur BRUSTIER, *de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Toulouse, qui a bien voulu accepter de diriger notre thèse, et qui ne nous a ménagé ni les conseils autorisés, ni les remarques nécessaires à sa rédaction définitive.*

M. le Professeur MACHEBŒUF, *de l'Institut Pasteur de Paris, qui nous a largement ouvert ses laboratoires, nous a guidé, et a contrôlé lui-même les expériences que nous avons faites sur la Barégine. Nous remerçions aussi son assistant, M.* DELSALLE, *qui a travaillé en collaboration étroite avec nous.*

M. le Pharmacien-Général BUROLLET, *Docteur ès-Sciences, Directeur scientifique des Thermes de Luchon, spécialiste des Aérosols, qui a facilité nos recherches sur ce sujet, et nous a aidé dans notre travail de bibliographie.*

M. le Docteur P. MOLINERY, *ancien Interne des Hôpitaux de Paris, qui a bien voulu nous apporter son précieux concours dans l'étude de l'emploi des Eaux de Luchon en injections intratissulaires.*

M. LEYGUE, *Ingénieur-chimiste, Directeur de l'usine de Pénicilline de la Plaine-Saint-Denis, qui nous a initié aux techniques spéciales de dosage des antibiotiques.*

M. le Pharmacien Colonel ACCOYER *et M. le Docteur* BASTARD, *qui nous ont aidé dans nos travaux sur les Eaux de Barèges.*

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE DES VARIATIONS DE LA TOXICITE DE CERTAINS POISONS SOUS L'INFLUENCE DES EAUX SULFUREUSES DE BAREGES

L'action protectrice ou aggravatrice des eaux minérales à l'égard de certains poisons a été mise en évidence, il y a quelques années, à la suite des travaux de BILLARD (1 à 12).

Cet auteur observe que des moutons, après avoir brouté du genêt, dont on extrait la spartéine, semblaient réfractaires aux morsures de vipères, c'est-à-dire à leur venin. Il établit expérimentalement qu'il existait un antagonisme parfait entre la spartéine et le venin de vipères.

En effet, un mélange des deux substances injecté à un animal d'expérience ne produit plus aucun accident toxique, alors que spartéine et venin déterminent séparément des effets toxiques qui leur sont propres.

Puis, cherchant à augmenter la vitesse de dispersion ou de diffusion du sulfate de spartéine dans l'organisme animal, BILLARD vit qu'il y avait intérêt à l'administrer avec un électrolyte : il eut l'idée de se servir d'une solution électrolytique naturelle, et s'adressa aux Eaux minérales d'Auvergne.

Il constata au cours de ses expériences que les eaux de la Bourboule et du Mont-Dore neutralisent à elles seules les effets de la spartéine. Poussant enfin plus loin ses recherches, il prouva que d'autres Eaux minérales neutralisaient, de même façon remarquable, les effets toxiques du venin de vipère.

Il vit ensuite que le pouvoir des eaux minérales ne s'arrêtait

pas là et que certaines d'entre elles étaient capables de neutraliser diverses toxines microbiennes, en particulier les neurotoxines.

Dans une autre série d'expériences, BILLARD et divers auteurs constatèrent que des animaux, auxquels on administre préalablement de l'eau minérale, sont ultérieurement protégés contre la toxicité d'un poison, à condition qu'il s'écoule un certain délai entre l'administration de l'eau et celle du toxique.

Au pouvoir neutralisant constaté au cours de ses premières expériences « administration d'un mélange d'eau thermale et de poison », BILLARD donne le nom de POUVOIR ANAGOTOXIQUE ou ANAGOTOXIE.

Au même pouvoir neutralisant vérifié dans sa deuxième série d'expériences « administration d'eau thermale, suivie à quelque intervalle d'administration de poison », BILLARD donne le nom de POUVOIR PHYLACTIQUE ou PHYLAXIE.

ROCHE (45), de son côté, a donné d'excellentes définitions que nous adopterons :

« L'ANAGOTOXIE est la propriété que possède une eau minérale (ou tout autre produit peu ou pas toxique) de diminuer la toxicité d'une substance, quand eau minérale et substance toxique sont mélangées l'une à l'autre, et leur mélange administré à l'animal. »

« La PHYLAXIE est la propriété que possède une eau minérale (ou tout autre produit peu ou pas toxique) de protéger l'animal contre l'action d'un toxique, lorsqu'elle est administrée préalablement à ce toxique. »

Très justement, VIOLLE (48) fait remarquer que cette action neutralisante porte, « non sur une action toxique déclanchée, mais sur une action toxique en puissance ».

Les eaux minérales, cependant, n'ont pas constamment de telles actions protectrices. Les phénomènes observés avec certaines eaux sont d'ordre inverse. On leur donne alors le nom d'AGOTOXIE et de PHYLAXIE NEGATIVE ou ANTIPHYLAXIE. (Le mot anaphylaxie ne semble pas adéquat, pour traduire ce phénomène, en raison du sens particulier qu'on lui donne actuellement).

L'AGOTOXIE est donc la propriété que possède l'eau minérale d'augmenter la toxicité d'une substance, lorsque eau minérale et substance toxique mélangées sont administrées à un animal.

LA PHYLAXIE NEGATIVE ou ANTIPHYLAXIE est la propriété que possède l'eau minérale d'augmenter la toxicité d'un poison, lorsqu'elle est administrée préalablement à ce poison.

De nombreux auteurs ont tenté d'expliquer ce rôle protecteur ou aggravateur des Eaux minérales vis à vis des poisons. Contentons nous de rappeler les principales hypothèses émises :

Violle et Giberton (49-50) font jouer un rôle aux cristalloïdes en solution dans les eaux minérales. Le pH du milieu aurait également une grande importance.

Perrin et Cuenot (37 à 41) voient la solution du problème dans une simple réaction chimique donnant naissance à de nouveaux corps plus ou moins toxiques.

Dodel (17) s'élève contre ces interprétations. Pour lui, les phénomènes phylactiques, qui se manifestent encore parfois plus d'un mois après l'administration de la substance phylactisante, permettent à eux seuls de dire que les hypothèses de Violle et Giberton et celles de Perrin et Cuenot sont insuffisantes à tout expliquer. Les substances phylactiques modifieraient les lipoïdes de l'organisme animal, empêchant ainsi ou favorisant l'imprégnation de ces mêmes lipoïdes par les substances toxiques. Il semblerait donc que les poisons étant surtout fixés par les lipoïdes, les phénomènes de phylaxie et d'anagotoxie, et leurs contraires, se ramènent simplement à des modifications de la perméabilité cellulaire.

Nos expériences personnelles nous poussent volontiers à croire qu'une part de vérité existe dans chacune des ces hypothèses, et que tous les faits observés ne peuvent s'expliquer par une seule d'entre elles.

L'idée d'entreprendre à Barèges l'étude qui va suivre nous vint à l'esprit du fait que l'empirisme a établi depuis longtemps que la cure de Barèges n'est pas simplement favorable aux victimes de Mars. On a très souvent vérifié, depuis le siècle dernier, chez les malades traités dans cette station, une très nette augmentation de leur tolérance au mercure, et constaté d'excellents effets thérapeutiques dans le traitement de la syphilis.

Ces faits nous permirent d'espérer, avant même de commencer nos travaux, que les résultats que nous pourrions obtenir, seraient de quelqu'intérêt.

Nos expériences ont été réalisées avec l'aide de deux sortes d'animaux réactifs, les poissons et les cobayes.

Nos expérimentations sur les premiers ont été bien plus poussées, parce que nous avons pu nous en procurer un grand nombre. Et nous nous permettons de remercier tout de suite M. Chenuau, Inspecteur des Eaux et Forêts, qui, avec la plus grande amabilité, a mis à notre disposition des alevins de truite arc-en-ciel, en nombre suffisamment important pour nos expériences.

Nous avons été au contraire plus limité en ce qui concerne les cobayes.

CHAPITRE I

ANIMAUX REACTIFS : ALEVINS DE TRUITE

Si vairons et gardons vivent facilement dans une eau quelconque, il n'en est pas de même pour les alevins de truite. Ceux-ci nous ont donné quelques difficultés, pour les acclimater dans notre laboratoire.

Leur vitalité en milieu favorable est aussi grande que leur sensibilité au manque d'oxygène et aux variations de température.

Nous n'avons pourtant qu'à nous louer de leur utilisation, en raison des résultats précis qu'ils donnent, comme animaux réactifs, avec les divers toxiques.

Nous croyons utile de décrire brièvement le mode d'installation de nos alevins, parce que le matériel utilisé à cet effet nous a donné entière satisfaction.

Pour les poissons nécessaires aux expériences de la journée, nous avons pris comme aquarium un tonnelet en verre de 30 litres alimenté par un courant d'eau riche en oxygène, d'un débit de 60

litres-heure. Cette arrivée d'eau se fait par un tube effilé à 20 centimètres environ au dessus du niveau d'eau dans l'aquarium : cela permet à l'eau d'arriver sous une forte pression et cela entraîne des bulles d'air.

Uu tube d'évacuation d'un calibre supérieur à celui d'arrivée de l'eau, part de la base de l'aquarium ; il est muni d'une crépine pour empêcher les poissons de passer ; ce tube d'évacuation est coudé et remonte pour aller se déverser dans un évier placé 30 centimètres au dessus de la base de l'aquarium. De cette façon le niveau d'eau demeure toujours constant dans le tonnelet. Le débit d'arrivée fait que l'eau se renouvelle deux fois dans l'heure, et dans ces conditions la température se maintient constante (11 degrés).

Les alevins de truite y vivent dans d'excellentes conditions.

Dans une dérivation d'un torrent descendant de la montagne, nous avions notre réserve d'alevins nourris avec de la pulpe de râte.

Mis dans une eau non renouvellée, les alevins y meurent assez vite, si leur troupe est nombreuse.

Mis seul au contraire dans très peu d'eau non renouvelée, un alevin peut y vivre plus de 24 heures, en raison sans doute des faibles besoins d'oxygène d'un seul poisson.

Ce fait a un grand intérêt, parce qu'il permet facilement des expériences d'assez longues durées dans des simples cristallisoirs.

Nous débutâmes en vérifiant le comportement des truitelles dans l'eau minérale, dont nous voulions étudier les propriétés. Nous n'étions pas sans inquiétude, à vrai dire, sur l'avenir de nos poissons, habitués à vivre dans l'eau glacée et riche en oxygène des torrents pyrénéens, et condamnés subitement à vivre dans l'eau sulfureuse de Barèges, très pauvre en oxygène.

Nous fûmes très vite fixé. Mis dans un cristallisoir contenant de l'eau de la source Entrée I refroidie à 11 degrés, un alevin y meurt en 10 minutes. Mais heureusement pour le développement de nos travaux, il vit normalement plusieurs heures dans une dilution au demi de la même eau avec celle du robinet.

Nous nous sommes donc constamment servi d'Eau Entrée I au demi, puisque cette solution permet la vie des poissons.

D'autre part, il nous faut indiquer que toutes nos expériences ont été faites avec l'eau de cette source Entrée I, qui alimente la

piscine militaire, parce que nous avons constaté que toutes les sources de Barèges donnent des résultats identiques, en raison de leur degré de sulfuration.

Tous les résultats sont établis en prenant la moyenne entre 4 alevins de grosseur et de résistance identique.

Les différentes séries d'expériences qui ont été faites sont les suivantes :

EXPERIENCES D'ANAGOTOXIE ET D'AGOTOXIE :

Nous avons constamment dilué nos toxiques dans l'eau Entrée I au demi.

EXPERIENCES DE PHYLAXIE POSITIVE ET NEGATIVE :

Ici les poissons sont mis une heure dans l'eau Entrée I au demi. Ils sont remis ensuite en eau courante également une heure, afin de leur faire récupérer leur vitalité intégrale, sans gêner les expériences, car nous avons pu constater que la phylaxie obtenue ainsi, persiste encore 24 heures après. Les poissons phylactisés sont ensuite mis dans les toxiques dilués dans l'eau ordinaire.

EXPERIENCES DE TOXICITE :

C'est l'expérience témoin faite avec le toxique dans l'eau ordinaire.

ACTION DES POISONS SUR LES ALEVINS DE TRUITE :

Les divers toxiques que nous avons étudiés ont chacun sur les alevins une action qui leur est propre. On observe ainsi chez le poisson de petits tableaux cliniques en miniature, plus précis qu'on ne s'y attendait *à priori*. Avec de la patience dans l'observation, les signes de la mort complète des truitelles sont parfaitement nets et précis.

A titre de curiosité signalons d'abord que nos alevins peuvent vivre d'une façon sensiblement normale dans une solution de

chlorhydrate de morphine à 1 %, et dans une autre de sulfate d'Atropine de même concentration.

Les sulfates de cuivre et de zinc sont très peu toxiques pour eux, même à fortes concentrations.

Cependant, les alevins semblent d'une façon générale être plus sensibles aux poisons minéraux qu'aux poisons végétaux.

La strychnine elle-même n'est pas très toxique pour eux. Elle les paralyse assez vite, mais ils peuvent vivre ainsi presque indéfiniment, du moins dans les solutions assez faibles. Remis en eau courante, ils se remettent bientôt à nager avec leur vigueur primitive.

Les résultats de nos expériences avec les divers toxiques, tant végétaux que minéraux, permettent de classer ceux que nous avons étudiés en trois groupes :

a) Groupe I : Ceux dont les effets toxiques sont aggravés par l'administration simultanée de l'eau minérale et du poison (*Agotoxie*), et diminués par l'administration préalable de l'eau minérale (*Phylaxie*).

b) Groupe II : Ceux dont les effets toxiques sont aggravés dans les deux cas, par administration simultanée (*Agotoxie*) ou préalable (*Phylaxie négative*) de l'eau minérale et du poison.

c) Groupe III : Ceux dont les effets toxiques sont diminués dans les deux cas, par administration simultanée (*Anagotoxie*) ou préalable (*Phylaxie*) de l'eau minérale et du poison.

GROUPE I

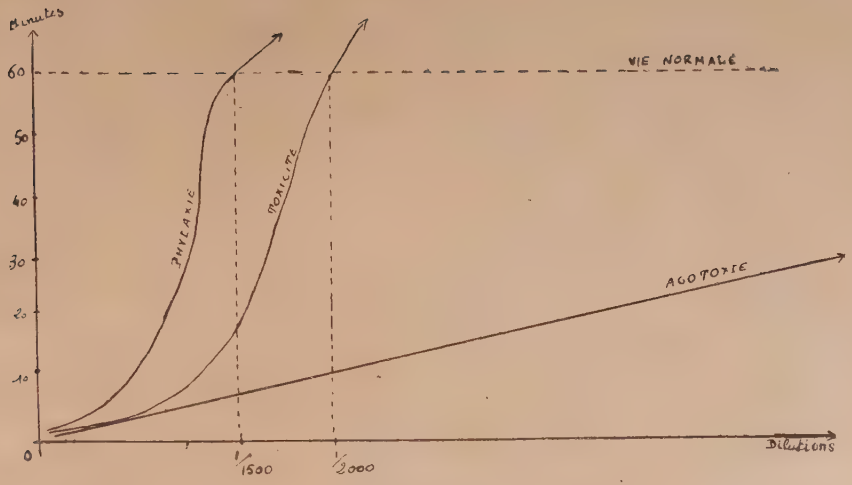
POISONS AVEC LESQUELS ON OBTIENT AGOTOXIE ET PHYLAXIE

(Alcaloïdes du Tabac, Strychnine sulf., Quinine chl., Mercure cyanure)

1. — Alcaloïdes totaux du Tabac

L'alevin de truite est très sensible à la nicotine. Il se produit d'abord des phénomènes paralytiques avec vomissements abondants et respiration difficile. La mort se produit alors très rapidement aux doses fortes. Mais aux doses plus faibles, le poisson, en apparence gravement atteint, récupère peu à peu ses forces et reprend la vie normale.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE
1/100	Mort en 2'	Mort très rapide	Mort en 4'
1/500	— 5'	—	— 10'
1/1.000	— 6'	—	— 13'
1/1.300	— 8'	—	— 15'
1/1.500	— 48'	—	Vie normale
1/2.000	Vie normale	Mort en 4'	—
1/5.000	—	— 10'	—
1/10.000	—	— 13'	—
1/15.000	—	— 18'	—
1/20.000	—	Vie normale	—



Lorsqu'il y a administration simultanée de l'eau minérale et du poison, nous avons une aggravation de toxicité (*Agotoxie*) : il faut dix fois moins de toxique pour tuer l'animal.

Lorsque l'eau minérale est administrée préalablement au poison, nous avons protection (*Phylaxie*) : il faut alors un quart de fois plus de toxique pour tuer l'animal.

2. — Sulfate de strychnine

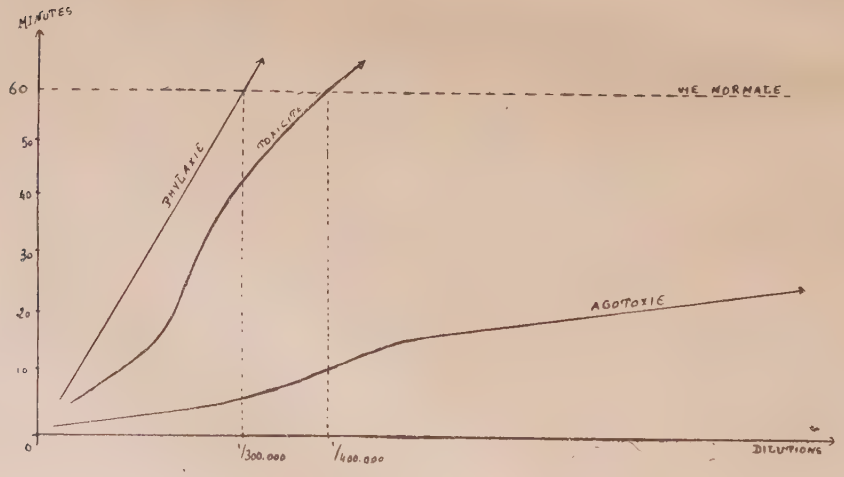
Le poisson mis dans des solutions fortes de sulfate de strychnine meurt très rapidement. Par contre, à partir de 1/50.000 (en solution dans l'eau ordinaire), le poisson est d'abord atteint de mouvements convulsifs, puis il se met sur le dos et reste indéfiniment dans cette position, respirant normalement, le réflexe caudal étant aboli. Il semble alors atteint d'une véritable paralysie. Si, à se moment-là, on le remet dans de l'eau pure, il récupère sa vie normale et intégrale. Des faits analogues ont été vérifiés sur la grenouille par Busquet et Vischniac (13).

Ne voulant pas considérer comme vie normale la situation des poissons qui vivent encore une heure après, mais sont en état de

paralysie avant ce délai, nous considérons dans cette expérience *le test de toxicité atteint lorsque le poisson se met sur le dos.*

L'expérience marche alors avec une régularité parfaite.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE
1/50.000	Sur le dos en 10'	Sur le dos en 2'30	Sur le dos en 12'30
1/75.000	— 15'	— 3'	— 18'
1/100.000	— 18'	— 3'30	— 28'
1/200.000	— 31'	— 4'	— 44'
1/300.000	— 49'	— 7'30	Vie normale
1/400.000	Vie normale	— 8'	—
1/500.000	—	— 8'30	—
1/1.000.000	—	— 10'	—
1/5.000.000	—	— 17'	—
1/8.000.000	—	— 40'	—
1/10.000.000	—	Vie normale	—



Agotoxie : Il faut 20 fois moins de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie : Il faut 1/5 de fois plus de toxique pour tuer l'animal.

Il y a donc aggravation dans le premier cas et protection dans le second.

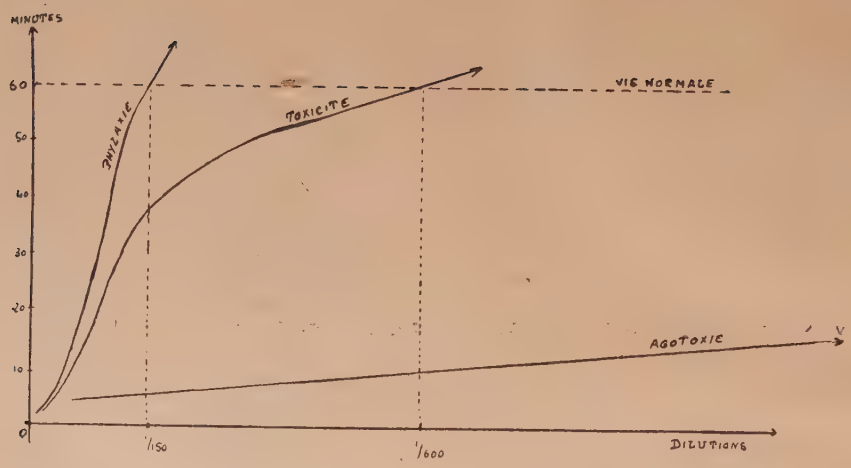
3. — Quinine (Chlorhydrate)

Nous nous sommes adressé à la quinine, médicament usuel de l'homme, et nous avons employé le chlorhydrate neutre, en raison de sa grande solubilité dans l'eau.

L'alevin de truite est très sensible à la quinine, et se comporte dans les diverses dilutions avec une grande régularité. La toxicité propre de ce sel de quinine est cependant relativement faible.

Il faut noter que, même dans les dilutions qui lui permettront une vie normale plusieurs heures après, le poisson se met d'abord sur le dos et semble devoir mourir, mais peu de temps après, se remet à nager et reprend son existence normale.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE
1/20	Mort en 9'	Mort en 6'	Mort en 11'
1/40	— 18'	— 7'	— 23'
1/60	— 23'	— 7'	— 38'
1/100	— 35'	— 7'	— 54'
1/150	— 40'	— 7'	Vie normale
1/200	— 45'	— 7'	—
1/300	— 50'	— 8'	—
1/500	— 55'	— 8'	—
1/600	Vie normale	— 8'	—
1/1.200	—	— 9'	—
1/5.000	—	— 10'	—
1/10.000	—	— 16'	—
1/20.000	—	— 33'	—
1/40.000	—	— 48'	—
1/50.000	—	— 54'	—
1/60.000	—	Vie normale	—



Agotoxie : Il faut 100 fois moins de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie : Il faut 4 fois plus de toxique pour tuer l'animal.

Il y a donc aggravation dans le premier cas et protection dans le second.

4. — Cyanure de mercure

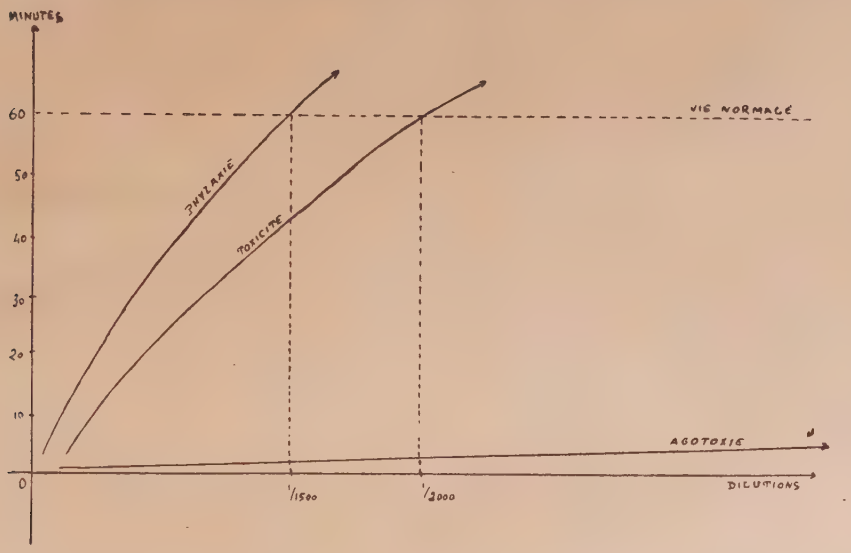
Le cyanure de mercure est un des sels de mercure les moins toxiques pour l'alevin de truite (il l'est, par exemple, beaucoup moins que le biiodure de mercure), mais la mort se produit toujours dans des conditions identiques (vomissements, convulsions).

Le cyanure de mercure donne, avec l'eau, une réaction chimique : $S\,Na\,2 + (CN)2\,Hg = S\,Hg + 2\,CN\,Na$.

Ce sulfure de mercure est un corps insoluble, qui ne se dissout que dans un excès d'eau minérale, sous forme de cinabre. Nous donnerons plus loin des explications détaillées de la réaction qui se produit, lorsque nous nous occuperons du biiodure de mercure.

L'Agotoxie énorme obtenue semble en rapport avec la formation du cyanure de sodium, extrêmement toxique pour le poisson.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE
1/100	Mort en 16'	Mort très rapide	Mort en 17'
1/200	— 18'	—	— 20'
1/400	— 30'	—	— 34'
1/600	— 35'	—	— 40'
1/800	— 42'	—	— 48'
1/1.000	— 46'	—	— 56'
1/1.500	— 58'	—	Vie normale
1/2.000	Vie normale	—	—
1/100.000	—	Mort en 8'	—
1/300.000	—	— 12'	—
1/500.000	—	— 20'	—
1/1.500.000	—	— 46'	—
1/2.000.000	—	Vie normale	—



Agotoxie : Il faut 1.000 fois moins de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie : Il faut 1/4 de fois plus de toxique pour tuer l'animal.

Il y a donc aggravation dans le premier cas et protection dans le second.

GROUPE II

POISONS AVEC LESQUELS ON OBTIENT : AGOTOXIE ET PHYLAXIE NEGATIVE

(soit aggravation dans les deux cas)

Cyanure de sodium, Alcool, Salicylate de soude, Sulfate de Spartéine

1. — Cyanure de sodium

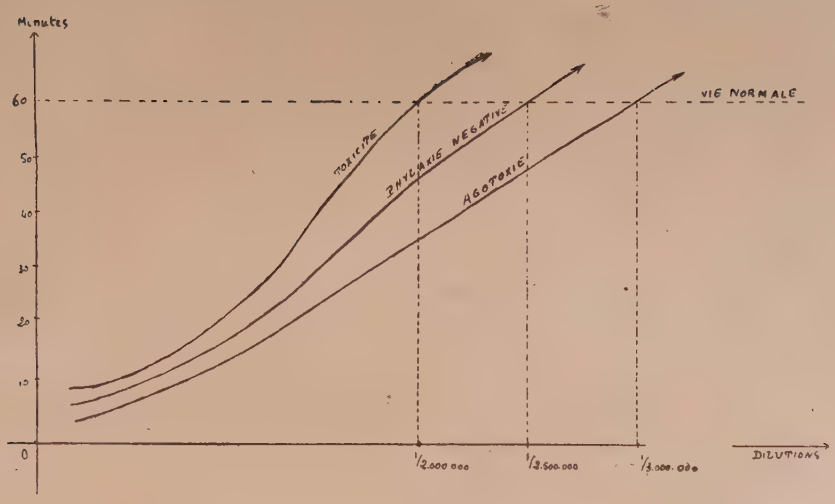
La réaction de l'eau de Barèges sur le cyanure de mercure donnant du cyanure de sodium, nous avons voulu étudier l'action particulière de ce toxique.

Le cyanure de sodium est très toxique pour le poisson, nettement plus que le cyanure de mercure, comme cela était à prévoir.

Notons d'ailleurs que la toxicité du cyanure de sodium correspond à peu près, toutes choses égales d'ailleurs, à celle obtenue par le mélange eau thermale + cyanure de mercure, ce qui confirme que cette réaction donne bien du cyanure de sodium.

Le poisson meurt rapidement, sans signes particuliers. L'agonie est courte, avec quelques mouvements désordonnés.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE NEGATIVE
1/100.000	Mort en 12'	Mort en 9'	Mort en 10'
1/500.000	— 18'	— 14'	— 16'
1/1.000.000	— 31'	— 21'	— 25
1/1.500.000	— 56'	— 39'	— 42'
1/2.000.000	Vie normale	— 44'	— 55'
1/2.500.000	—	— 54'	Vie normale
1/3.000.000	—	Vie normale	—



Agotoxie : Il faut une fois et demie moins de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie négative : Il faut 1/5 de fois moins de toxique pour tuer l'animal.

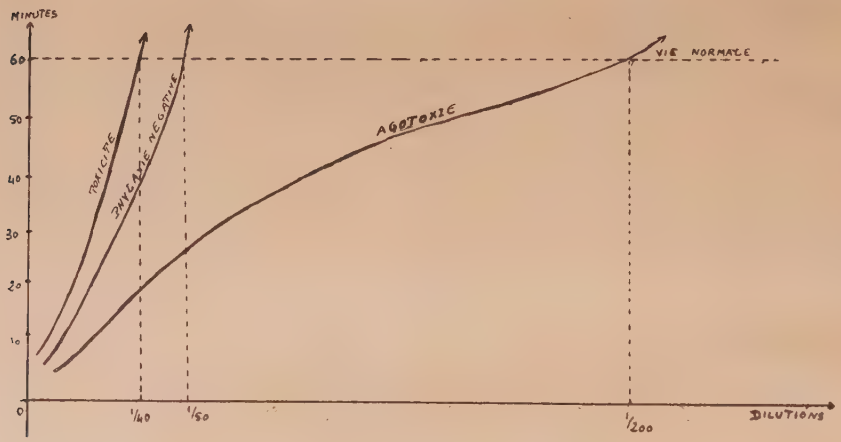
2. — Alcool à 95

L'alevin de truite est très sensible à l'alcool, qui le tue très rapidement aux faibles dilutions.

Le poisson se met rapidement sur le dos ; il est atteint de mouvements fibrillaires qui durent longtemps, avant la mort (arrêt de tout mouvement des ouïes et des nageoires).

Etant donné que, dans le mélange d'eau pure et d'alcool, dès la dilution à 1/40, le poisson se met sur le dos, mais reste vivant et respire normalement une heure après, nous avons pris cette dilution comme seuil de la vie. Un tel poisson remis dans l'eau pure retrouve sa vie normale en moins d'une heure. Il est comparable à un homme en état d'ivresse.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE NEGATIVE
1/10	Mort en 11'	Mort en 7'	Mort en 9'
1/20	— 20'	— 14'	— 15'
1/30	— 27'	— 20'	— 23'
1/40	Vie normale	— 30'	— 50'
1/50	—	— 35'	Vie normale
1/75	—	— 43'	—
1/100	—	— 49'	—
1/150	—	— 55'	—
1/200	—	Vie normale	—



Agotoxie : Il faut 5 fois moins de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie négative : Il faut 1/5 de fois moins de toxique pour tuer l'animal.

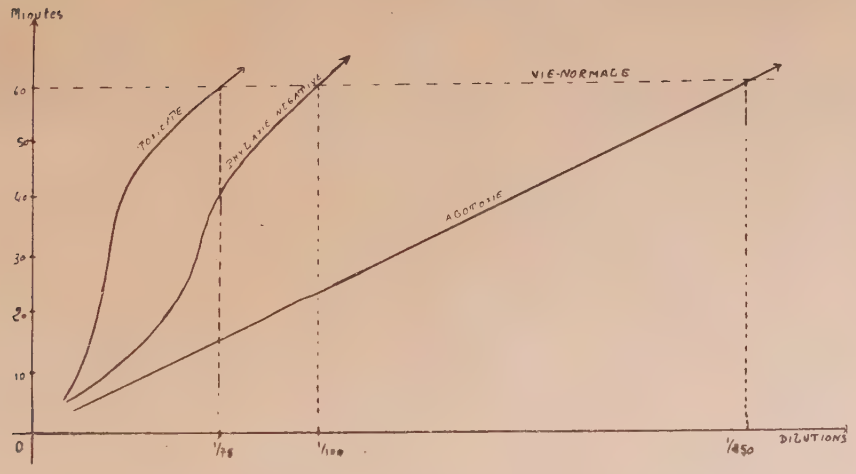
3. — Salicylate de soude

Nous nous sommes adressé avec intérêt à ce médicament en raison de sa spécificité antirhumatismale. Nous voulions savoir si les eaux sulfureuses qui ont, elles aussi, une action sur les rhumatismes, pourraient permettre une absorption plus intense de ce médicament.

Il n'en est rien et, comme le montre le tableau et la courbe, le salicylate de soude est moins bien toléré par l'animal réactif.

L'alevin de truite est très sensible à ce médicament. Dans une solution assez forte, il se met presque aussitôt sur le dos et est atteint de mouvements convulsifs violents. L'agonie est ensuite relativement longue, mais la toxicité diminue vite avec les dilutions.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE NEGATIVE
1/10	Mort en 5'	Mort en 3'	Mort en 4'
1/15	— 8'	— 5'	— 7'
1/20	— 13'	— 7'	— 8'
1/30	— 22'	— 13'	— 13'
1/40	— 40'	— 20'	— 21'
1/50	— 53'	— 26'	— 33'
1/75	Vie normale	— 40'	— 50'
1/100	—	— 50'	Vie normale
1/200	—	— 58'	—
1/250	—	Vie normale	—



Agotoxie : Il faut 3 fois moins de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie négative : Il faut 1/4 de fois moins de toxique pour tuer l'animal.

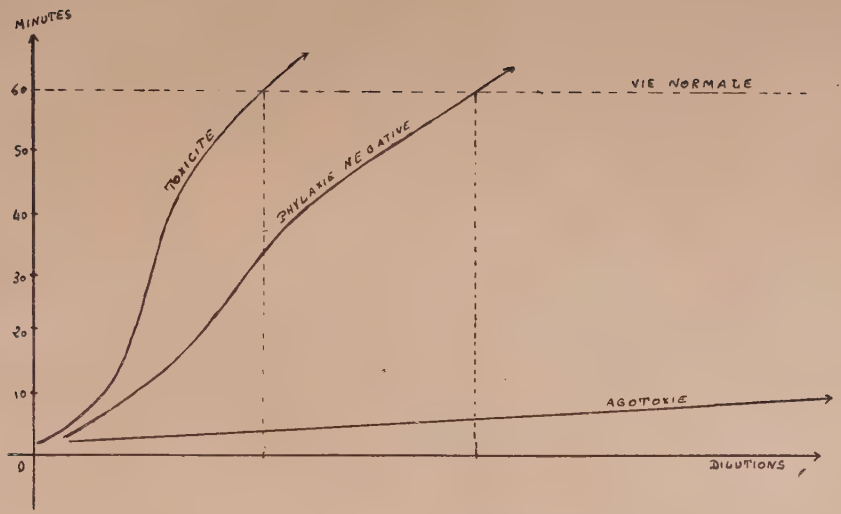
4. — Sulfate de spartéïne

Nous avons étudié ce médicament, puisqu'il fut pour Billard (*loc. cit.*), le point de départ de ces phénomènes de Phylaxie et d'Anagotoxie, que nous étudions aujourd'hui sur les eaux de Barèges.

La spartéine, en solution dans l'eau pure, se révèle comme assez peu toxique pour l'alevin de truite. Par contre, elle devient très toxique mélangée à l'eau minérale. Bien qu'il semble impossible qu'une réaction chimique puisse se produire quand on fait ce mélange, la spartéine devient cependant alors, 300 fois plus toxique.

Les poissons se comportent de la même façon avec la spartéine qu'avec la quinine. Ils se mettent sur le dos et semblent atteints de contractures, puis, si la dilution est assez faible, ils récupèrent leurs mouvements.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	AGOTOXIE Eau pure + poison	PHYLAXIE NEGATIVE
1/10	Mort en 14'	Mort très rapide	Mort en 11'
1/15	— 19'	—	— 14'
1/20	— 27'	—	— 16'
1/25	— 31'	—	— 20'
1/30	— 48'	—	— 28'
1/40	Vie normale	—	— 35'
1/50	—	—	— 55'
1/75	—	—	Vie normale
1/1.000	—	Mort en 5'	—
1/4.000	—	— 9'	—
1/6.000	—	— 13'	—
1/8.000	—	— 22'	—
1/9.000	—	— 50'	—
1/10.000	—	— 57'	—
1/12.000	—	Vie normale	—



Agotoxie : Il faut 300 fois moins de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie négative : Il faut 2 fois moins de toxique pour tuer l'animal.

GROUPE III

POISONS AVEC LESQUELS ON OBTIENT ANAGOTOXIE ET PHYLAXIE

(soit protection dans les deux cas)

Novarsénobenzol, Iode, Biiodure de Mercure

1. — Novarsénobenzol

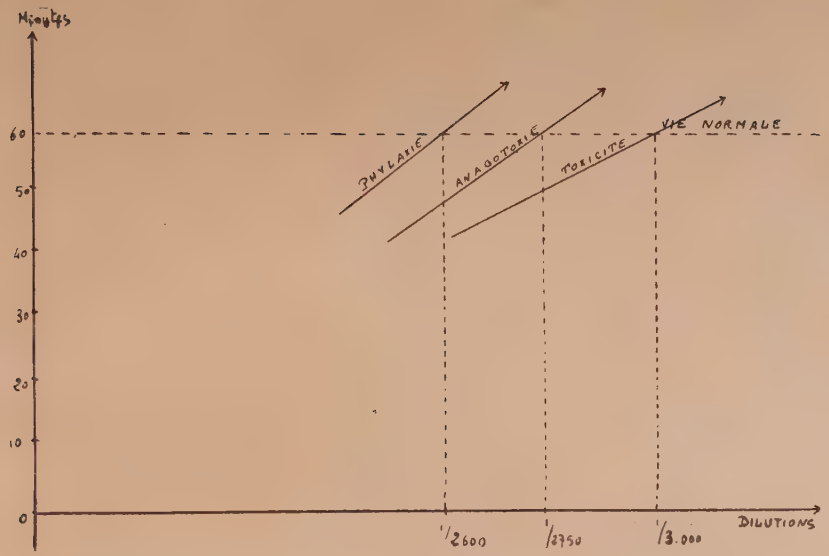
Comme cela a été déjà signalé par Puech et Roche (42) dans leurs expériences sur les eaux de la Bourboule avec le *Gambusia* comme animal réactif, les alevins de truite présentent vis-à-vis du Novarsénobenzol, une résistance accrue par un séjour de quelque temps dans l'eau sulfureuse.

Cependant, les alevins réagissent d'une façon irrégulière, sans doute en raison de la complexité du poison.

Toutefois, à partir de dilutions faibles (1/2.600), il nous a été donné d'observer que l'eau de Barèges possède non seulement un pouvoir phylactique, mais également un pouvoir anagotoxique réel.

Si l'on s'en tient uniquement au seuil de la vie normale des poissons dans les trois cas, on obtient des résultats concordants, donnés ci-après (moyenne d'une centaine d'expériences) :

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	ANAGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE
1/2.600	Mort	Mort	Vie normale
1/2.750	—	Vie normale	—
1/3.000	Vie normale	—	—



Anagotoxie : Il faut 1/20 de fois plus de toxique pour tuer l'animal.

Phylaxie : Il faut 1/6 de fois plus de toxique pour tuer l'animal.

2. — Iode

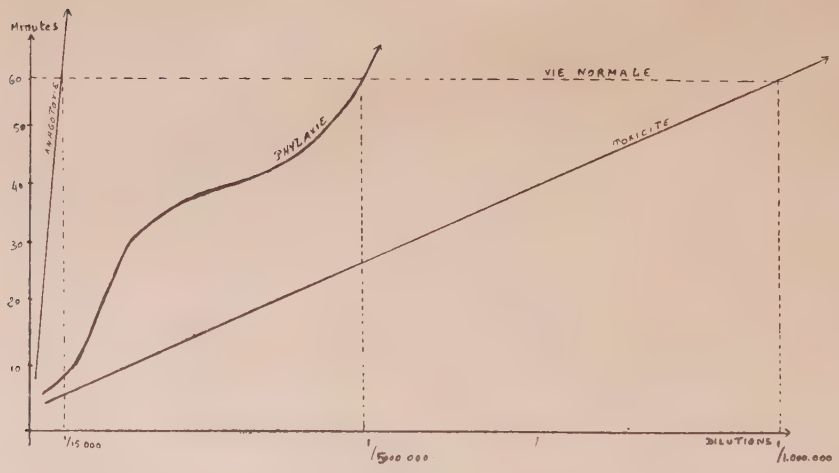
L'Iode est neutralisé par l'eau sulfureuse comme par l'hyposulfite de soude, à une dilution comprise, pour l'Eau Entrée 1 au demi, entre le 1/14.000 et le 1/15.000. Tant que l'eau sulfureuse n'est pas en quantité suffisante pour neutraliser tout l'iode, le poisson meurt très rapidement, mais dès que la dilution où l'iode est neutralisé est atteinte, il vit alors normalement.

Il réalise un véritable indicateur biologique de la réaction, peut-être plus sensible que les réactifs colorés (empois d'amidon).

La réaction dominante de l'eau de Barèges sur l'iode consiste en la formation d'un iodure de sodium et de soufre en formation, qui rend la solution lactescente : $S\,Na\,2 + 2\,I = 2\,I\,Na + S$.

Si cette réaction explique le pouvoir anagotoxique, elle ne peut toutefois pas expliquer le pouvoir phylactique qui est assez élevé, à moins qu'une réaction semblable ne se produise dans l'organisme du poisson.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	ANAGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE
1/10.000	Mort en 6'	Mort en 7'	Mort en 10'
1/13.000	— 6'	— 15'	— 10'
1/14.000	— 6'	— 29'	— 10'
1/15.000	— 6'	Vie normale	— 10'
1/20.000	— 7'	—	— 11'
1/30.000	— 10'	—	— 13'
1/50.000	— 11'	—	— 15'
1/100.000	— 13'	—	— 18'
1/200.000	— 19'	—	— 40'
1/400.000	— 36'	—	— 46'
1/500.000	— 42'	—	Vie normale
1/750.000	— 55'	—	—
1/1.000.000	Vie normale	—	—



Anagotoxie : Il faut 50 fois plus de toxique pour tuer l'animal.
Phylaxie : Il faut 2 fois plus de toxique pour tuer l'animal.

3. — Biiodure de mercure
(Solubilisé par l'iodure de Potassium)

Lorsqu'on mélange le biiodure de mercure avec l'eau minérale de Barèges, une coloration brune se produit aussitôt. Celle-ci est due à la réaction du sulfure de sodium de l'eau minérale sur le biiodure de mercure, le corps obtenu étant le sulfure de mercure :

$$S\,Na\,2 + I\,2\,Hg = 2\,I\,Na + S\,Hg$$

Ce sulfure de mercure est un corps insoluble, même dans les acides. Seul le sulfure de sodium le solubilise un peu, en le transformant en cinabre, variété la plus stable du sulfure mercurique.

C'est exactement ce qui se passe avec l'eau de Barèges : aux faibles dilutions, il y a d'abord formation d'un précipité noir de sulfure de mercure. Lorsque les dilutions augmentent (de 1/20.000 à 1/60.000) ce précipité devient de plus en plus faible, par suite de la solubilité partielle du sulfure de mercure dans l'eau thermale, et à partir d'une solution assez forte (1/80.000) le précipité ne se forme plus, le sulfure de mercure formé étant complètement soluble dans l'excès d'eau minérale.

D'où la courbe d'anagotoxie obtenue. Au début, le sulfure de mercure est presque entièrement précipité, d'où vie beaucoup plus longue. Puis un peu de sulfure se solubilise et la courbe descend par suite de la toxicité du sulfure de mercure. La courbe remonte ensuite, quand il n'y a plus assez de S Hg pour intoxiquer le poisson.

DILUTIONS	TOXICITE Eau pure + poison	ANAGOTOXIE Eau min. + poison	PHYLAXIE
1/15.000	Mort en 4'	Mort en 16'	Mort en 8'
1/20.000	— 4'	— 59'	— 10'
1/30.000	— 4'	— 45'	— 10'
1/40.000	— 5'	— 43'	— 11'
1/50.000	— 5'	— 28'	— 12'
1/60.000	— 7'	— 24'	— 14'
1/80.000	— 8'	— 27'	— 14'
1/100.000	— 9'	— 52'	— 15'
1/200.000	— 14'	— 59'	— 19'
1/400.000	— 15'	Vie normale	— 28'
1/600.000	— 17'	—	— 29'
1/1.000.000	— 23'	—	— 45'
1/2.000.000	— 35'	—	Vie normale
1/4.000.000	— 58'	—	—
1/5.000.000	Vie normale	—	—

Anagotoxie : Il faut 10 fois plus de toxique pour tuer l'animal.
Phylaxie : Il faut 2,5 fois plus de toxique pour tuer l'animal.
Il y a donc protection importante dans les deux cas.

CHAPITRE II

ANIMAUX REACTIFS : COBAYES

Etude du biiodure de mercure

L'eau de Barèges, nous venons de le voir, protège l'alevin de truite contre le Biiodure de mercure, que ce soit par administration préalable ou simultanée.

Etant donné l'intérêt d'une telle protection, anciennement connue de façon empirique en clinique humaine, nous avons consacré le petit nombre de cobayes que nous avions à notre disposition, à la seule étude des propriétés de l'eau de Barèges vis-à-vis de ces rongeurs, lorsqu'on leur administre du Biiodure de mercure.

Les résultats qui vont suivre complètent heureusement ceux déjà obtenus avec les poissons.

Ne connaissant pas la dose de Biiodure nécessaire pour tuer un cobaye, nous avons décidé tout d'abord, un peu arbitrairement, d'injecter, par voie intramusculaire, un centigramme de biiodure par kilog d'animal.

Cette dose est nettement au-dessus de la dose mortelle. Après plusieurs essais, nous avons pu constater que la dose mortelle pour un cobaye était comprise entre 6 et 7 milligrammes de biiodure de mercure par kilog d'animal.

Ce chapitre se divisera en deux parties :

a) Recherche du pouvoir anagotoxique ;
b) Recherche du pouvoir phylactique.

Recherche du pouvoir anagotoxique de l'eau Entrée 1

Ces recherches ont été faites sur deux cobayes, un cobaye témoin auquel on injecte une dose dépassant la dose mortelle (1 centigramme par kilog d'animal) et un cobaye auquel on injecte cette même dose mélangée avec de l'eau sulfureuse.

Les résultats de cet essai sont consignés dans le tableau suivant :

COBAYE TEMOIN	COBAYE DES RECHERCHES ANAGOTOXIQUES
Poids : 480 gr. Dose injectée : 4 mmgr. 8 (1 ctgr. par kg.). Une heure après : Prostration. Tremblements. Ventre ballonné. Polyurie. Deux heures après : Polyurie hématurique. Huit heures après : Anurie. Vingt-trois heures après : MORT. Autopsie : Epanchement hématique abondant, intrapéritonial. Congestion rénale bilatérale. Mort classique de l'intoxication mercurielle avec atteinte massive du rein.	Poids : 760 gr. Dose injectée : 7 mmgr. 6 (1 centigr. par kg.) Cette dose fut injectée dans 30 cc. d'Eau Entrée 1. Ces 30 cc. d'Eau Entrée 1 sont nécessaires et suffisants pour transformer intégralement en sulfure de mercure ,la dose de biiodure injectée. Aucun signe pathologique le jour de l'injection. L'animal mange et se promène. 24 heures après : absolument normal. SURVIE NORMALE.

Il y a donc anagotoxie indiscutable et extrêmement nette de l'Eau de Barèges vis à vis du biiodure de mercure, avec le cobaye comme animal réactif.

De plus, la tolérance par le cobaye d'une grande quantité d'eau minérale est ainsi démontrée. Nous avons vérifié ce fait à plusieurs reprises, ayant pu, sans aucun accident, injecter 25 à 30 cc. d'Eau de Barèges à un cobaye de 500 grammes.

A un cobaye de 500 grammes, nous avons injecté 5 milligr. de biiodure (1 centigr. par kg.) dans 5 cc. d'eau Entrée 1. Le cobaye est mort presque aussi rapidement que le témoin.

Nous interpréterons ce dernier fait de la façon suivante : 5 cc. d'eau Entrée 1 ne transforment qu'une faible partie du biiodure de

mercure en sulfate de mercure, et la quantité de biiodure non transformé en sulfure est encore plus que suffisante pour tuer l'animal.

Les phénomènes d'Anagotoxie que l'on obtient avec l'eau de Barèges vis à vis du Biiodure de mercure ne semblent donc dus qu'à la réaction chimique qui se produit, le sulfure de mercure étant moins toxique que le bioodure.

Recherche du pouvoir phylactique de l'eau Entrée I

Fort des expériences des différents auteurs sur ces questions de phylaxie, nous avons injecté 6 cc. d'Eau Entrée 1 prise directement au griffon, sous la peau d'un cobaye de 730 grammes, et nous avons laissé écouler 5 jours entiers, avant de lui administrer du Biiodure de mercure.

Les résultats sont consignés ci-après :

COBAYE TEMOIN	COBAYE PHYLACTISE
Le même cobaye que précédemment a été pris comme témoin. Se rapporter au tableau de l'Anagotoxie. MORT en 23 heures.	Poids : 730 gr. Dose injectée : 7 mmgr. 30 (1 centigr. par kg.) Aucun signe pathologique le jour de l'injection. L'animal mange et se promène. 24 heures après : Absolument normal. SURVIE NORMALE.

Il y a donc PHYLAXIE indiscutable et extrêmement nette de l'Eau de Barèges vis à vis du biiodure de mercure, avec le cobaye comme animal réactif.

Une deuxième expérience a été faite en doublant la dose, soit 2 centigr. par kilog, pour le cobaye préalablement phylactisé par injection sous-cutanée de 6 cc. d'Eau Entrée I.

Poids : 520 grammes.
Dose injectée : 1 centigr. 04.

Au bout de quelques heures, légère prostration, perte d'appétit, polyurie légère.

Mais le cobaye se rétablit rapidement et 24 heures après il est redevenu normal.

SURVIE NORMALE.

Une troisième expérience est alors tentée en triplant la dose de biiodure (soit 3 centigr. par kg.), le cobaye étant toujours phylactisé dans les mêmes conditions.

Les réactions sont alors beaucoup plus accentuées (prostration complète, polyurie), mais finalement, au bout de 48 heures, le cobaye paraît reprendre son état habituel.

SURVIE NORMALE.

Nous avons refait cette même expérience sur un autre animal, dans les mêmes conditions. Celui-ci a moins bien résisté ; il est mort en 36 heures.

Nous pouvons donc dire que nous sommes au seuil critique pour le cobaye phylactisé.

De cet ensemble de faits, nous pouvons conclure que l'eau de Barèges, injectée préalablement au cobaye, permet l'administration à cet animal d'une dose de Biiodure de mercure quatre fois plus forte que la dose toxique.

Dose mortelle pour le témoin..... 7 milligr. par kilog.
Dose mortelle pour le cobaye phylactisé.. 30 — —

LE POUVOIR PHYLACTIQUE EST DONC D'ENVIRON QUATRE.

Nous avons fait une autre expérience, en administrant par doses progressives le biiodure de mercure au cobaye témoin et au cobaye phylactisé, les mêmes doses étant données suivant le même horaire.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

JOURS	COBAYE TEMOIN (490 gr.)	COBAYE PHYLACTISE (480 gr.)
1er	1 mmgr. Polyurie légère	1 mmgr. Normal
2me	1 mmgr. Polyurie ballonnement	1 mmgr. »
3me	2 mmgr. Polyurie intense	2 mmgr. »
4me	3 mmgr. Prostration	3 mmgr. »
5me	4 mmgr. Anurie, tremblements.	4 mmgr. »
6me	MORT (mort en 111 heures	Pas d'injections pour voir si
7me	avec 11 mmgr. de Hg12)	accidents tardifs
8me	(soit 2 cgr. 2 par kg.)	4 mmgr. Normal
9me		4 mmgr. »
10me		4 mmgr. Prostration légère
11me		A récupéré.
12me		5 mmgr. Prostré, mange peu.
13me		A récupéré.
14me		6 mmgr. Prostration complète
15me		Polyurie Prostration
16me		7 mmgr. Anurie, ne mange plus
17me		Tremblements
18me		MORT (en 446 h. avec 41 mmgr.
19me		d I2 Hg)
		(soit 8 cgr. 5 par kg.)

Avec ce nouvel essai, nous arrivons à la même conclusion : Le pouvoir phylactique de l'Eau de Barèges vis à vis du Bioodure de mercure est environ de quatre.

CONCLUSION

Disons tout d'abord, après l'exposé des faits qui prouvent le pouvoir anagotoxique et phylactique de l'eau de Barèges vis à vis du biiodure de mercure, que le pouvoir phylactique est plus intéressant que le pouvoir anagotoxique.

En effet, chez l'homme, comme on l'a fait par le passé de façon empirique, ce sera sans doute toujours au pouvoir phylactique qu'on s'adressera de préférence.

Mais l'ensemble de ces résultats semble avoir, de plus, un grand intérêt doctrinal.

Ils montrent que les Théories de Perrin et Cuénot (*loc. cit.*) et celles de Dodel (*loc. cit.*), qui ont essayé d'expliquer ces phéno-

mènes, possèdent toutes les deux leur part de vérité, mais que chacune d'elles, séparément, est insuffisante à tout expliquer.

a) L'anagotoxie obtenue semble, pour une bonne part, visiblement le fait d'une simple réaction chimique. On sait que Perrin et Cuénot expliquent tous les phénomènes de protection dus aux eaux minérales de cette manière.

En effet, l'Eau de Barèges contient surtout en solution du monosulfure de sodium SNa2. Le sulfure de mercure produit dans la réaction est un corps bien moins toxique pour l'animal que le biiodure de mercure, d'où l'anagotoxie observée.

b) Mais pour les phénomènes de phylaxie relatés, cette explication est insuffisante, même si l'on suppose, sans preuve d'ailleurs, qu'une réaction chimique identique libérant du sulfure de mercure puisse se produire *in vivo*.

Combien plus intéressantes et propres à séduire sont les idées de Dodel. En effet, nous voyons tout d'abord que la faible quantité d'eau minérale injectée (6 cm3) ne peut pas neutraliser exactement la dose de biiodure ; que même si cette neutralisation se produit *in vivo*, la quantité de biiodure demeuré libre est encore plus que suffisante pour tuer l'animal.

D'autre part, conformément aux idées de Dodel, on ne peut supposer que l'eau minérale injectée 5 jours avant la dose de biiodure de mercure soit encore en circulation dans le sang à ce moment, pour réagir sur le biiodure.

Quant à l'interprétation biologique précise qu'a donné cet auteur des phénomènes phylactiques, elle a le mérite de s'étayer sur des faits physico-chimiques et biologiques connus.

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE DES VARIATIONS DE TOXICITE DE CERTAINS POISONS SOUS L'INFLUENCE DES EAUX SULFUREUSES DE LUCHON

Nous avons repris à Luchon, quelques années après, ces mêmes expériences de Phylaxie et d'Anagotoxie.

Malheureusement, du fait de la guerre, nous n'avons pas pu nous procurer des alevins de truite, poissons qui nous avaient donné de si bons résultats avec les Eaux de Barèges.

C'est donc uniquement au cobaye que nous nous sommes adressé, comme animal réactif, et là encore, nous n'avons pas pu nous procurer autant d'animaux que nous l'aurions voulu.

C'est pourquoi, nous nous sommes contentés de recommencer les expérimentations qui avaient été faites précédemment sur le cobaye, avec comme poison le biiodure de mercure.

Nous avons encore utilisé ce toxique, afin de comparer les pouvoirs phylactiques et anagotoxiques des Eaux des deux stations pyrénéennes.

Le protocole d'expérience a été le même que celui déjà suivi, et nous avons fait deux séries d'examens :

1) Recherche du pouvoir anagotoxique;

2) Recherche du pouvoir phylactique.

Recherche du pouvoir anagotoxique de l'Eau de Luchon (Pré n° 2)

Les expériences sont faites sur deux cobayes : un cobaye témoin auquel on injecte une dose dépassant la dose mortelle, soit

un centigramme par kilog, et un cobaye auquel on injecte cette même dose mélangée avec de l'eau sulfureuse.

Les résultats de cette expérience sont consignés dans le tableau suivant :

COBAYE TEMOIN	COBAYE DES RECHERCHES ANAGOTOXIQUES
Poids : 710 gr. Dose injectée : 7 mmgr. 1 (1 centigr. par kg.) Le cobaye meurt comme nous l'avons déjà vu précédemment en 20 heures. Epanchement hématique abondant et congestion rénale. MORT en 20 heures.	Poids : 650 gr. Dose injectée : 6 mmgr. 5 (1 centigr. par kg.) Cette dose est injectée après dissolution dans 20 cc. d'Eau de Pré n° 2. Ces 20 cc. sont nécessaires pour transformer intégralement en sulfure de mercure la dose de biiodure injectée. Aucun signe d'intoxication. SURVIE NORMALE.

Nous obtenons donc les mêmes résultats que ceux trouvés pour l'eau de Barèges, ce qui était à prévoir.

Nous avons d'ailleurs fait une nouvelle expérience et injecté à un cobaye de 580 gr., 5 mmgr. 8 d'I2 Hg (1 centigr. par kilog.) dans 5 cm3 d'eau de Pré n° 2; nous avons ainsi obtenu un résultat analogue, la mort du cobaye survenant presqu'aussi rapidement que pour le témoin.

Cependant ici les signes d'intoxication furent sensiblement retardés, et à l'autopsie les lésions observées furent moins intenses. Cela est dû, semble-t-il, au fait que l'eau de Luchon (Pré n° 2) étant plus sulfureuse que l'eau de Barèges (Entrée I), transforme une plus grande quantité de biiodure de mercure en sulfure de mercure. La quantité de biiodure restante est néanmoins suffisante pour tuer l'animal.

Cela nous permet d'affirmer, une fois de plus, d'une façon presque certaine, que les phénomènes d'anagotoxie que l'on obtient avec les Eaux sulfureuses de Barèges ou de Luchon ne sont dus qu'à la réaction chimique qui se produit quand on mélange l'eau sulfureuse avec le biiodure.

Recherche du pouvoir phylactique de l'Eau de Luchon

Nous avons pratiqué, toujours de la même façon, en injectant sous la peau du cobaye 6 cc. d'eau de Pré n° 2, prise directement au griffon et en laissant écouler 5 jours avant de lui administrer le biiodure de mercure.

Les résultats furent les suivants :

COBAYE TEMOIN	COBAYE PHYLACTISE
Dose injectée : 1 centigr. par kg. MORT en 20 heures. *Voir aux recherches anagotoxiques.*	Poids : 700 gr. Dose injectée : 7 mmgr. (1 centigr. par kg.) Aucun signe pathologique ni le jour de l'injection ni les suivants. SURVIE NORMALE.

Il y a donc PHYLAXIE absolument nette de l'Eau de Luchon vis à vis du Biiodure de mercure, avec le cobaye comme animal réactif.

En suivant le même protocole d'expériences, que nous avions adopté à Barèges, nous avons fait une nouvelle expérience en doublant la dose, soit deux centigrammes de biiodure de mercure par kilog d'animal, pour le cobaye préalablement phylactisé par 6 cc. d'eau de Pré n° 2 injectée 5 jours auparavant.

Il n'y a aucun signe pathologique, si ce n'est une légère prostration dans les premières heures, mais ces signes disparaissent très rapidement. L'animal continue à manger normalement. SURVIE NORMALE.

Une troisième expérience est alors faite en triplant la dose de biiodure, soit 3 centigrammes par kilog d'animal, pour un cobaye toujours phylactisé dans les mêmes conditions.

Les signes d'intoxication sont nets, prostration, polyurie, mais au bout de 36 heures, l'animal paraît complètement guéri, il mange et se promène : SURVIE NORMALE.

Ce n'est qu'à la quatrième expérience, après avoir injecté 4 centigr. par kilog, que l'animal succombe au bout de 40 heures.

De cet ensemble d'expériences, nous pouvons conclure que l'Eau de Luchon, injectée préalablement au cobaye, permet l'administration de 5 fois plus de Biiodure de mercure.

Dose mortelle pour le témoin : 7 milligr. par kilog.

Dose mortelle pour le cobaye phylactisé : 30 à 40 milligr. par kilog.

LE POUVOIR PHYLACTIQUE EST DONC D'ENVIRON CINQ.

Ce furent là les seules expérimentations que nous avons pu faire jusqu'à présent, le manque d'animaux réactifs ne nous ayant pas permis de pousser plus loin ces recherches.

CONCLUSIONS GENERALES

Les conclusions et les réflexions suivantes semblent se dégager des recherches que nous avons faites tant à Barèges qu'à Luchon :

1) Les Eaux sulfureuses sont très actives vis à vis de tous les toxiques étudiés, leur action étant extrêmement importante vis à vis de certains poisons.

2) Cette action consiste dans une protection de l'animal contre les effets toxiques des poisons, ou, au contraire, dans d'autres cas, en une aggravation de ces effets.

3) Ces faits encore obscurs, malgré l'impossibilité de mettre complètement en parallèle les réactions de l'homme avec celles des poissons ou des cobayes, semblent conseiller une grande prudence dans l'administration de certains médicaments, même peu toxiques, comme adjuvants de la cure thermale de Luchon ou de Barèges.

4) Les résultats obtenus avec le mercure sont particulièrement intéressants. Dans le cas du biiodure, il semble que tous les facteurs soient réunis dans ces deux stations, pour son utilisation thérapeutique au maximum.

L'expérience ancienne, mais empirique, des bienfaits de Barèges contre le « Syphilisme », dont bénéficia au siècle dernier le poète Henri Heine, semble s'étayer sur des faits expérimentaux.

5) Mais le sel de mercure à administrer n'est pas indifférent. Le cyanure de mercure, du moins *in vitro,* voit sa toxicité multipliée par 1.000, par suite de la formation avec l'eau sulfureuse de cyanure de sodium.

6) Au terme de cette étude sur les phénomènes de Phylaxie, nous constatons que bien des points demeurent encore obscurs. Pour éclairer vraiment ces questions complexes, d'autres études sont nécessaires :

Tout d'abord, l'étude des possibilités d'injections intratissulaires d'eau sulfureuse chez l'animal d'abord et chez l'homme ensuite.

Il sera nécessaire de rechercher l'état bactériologique de l'eau, son isotonie vis à vis du sérum sanguin et le caractère indolore de l'injection.

L'ensemble de ces études fait l'objet de la troisième partie de ce mémoire, et nous essaierons de déterminer une source possédant des caractères chimiques et bactériologiques lui permettant d'être impunément injectée.

TROISIÈME PARTIE

LES EAUX SULFUREUSES DE LUCHON EN INJECTIONS INTRATISSULAIRES

L'emploi des eaux minérales en injections intratissulaires remonte au siècle dernier. Glénard semble-t-il, usa le premier de ce mode d'administration, en injectant, dès 1899, à un de ses malades l'eau de Vichy Grande Grille (25).

A sa suite, Billard et Fereyrolles (apud Fleig 22) utilisèrent par la même voie l'eau de la Bourboule.

Enfin Fleig, de Montpellier, en 1909, dans son remarquable ouvrage « Les Eaux minérales, milieux vitaux » (22), tenta de généraliser la méthode, en arrivant à cette conclusion que « toutes les eaux minérales sont injectables chez l'homme, par les voies hypodermiques, intramusculaires et intraveineuses ».

La possibilité d'injection des eaux minérales était donc bien établie et, plus tard, l'on s'attacha dans certaines stations, dont Uriage reste l'exemple le plus connu, à pratiquer l'injection d'eau thermale dans un but thérapeutique.

Mais Fleig ne cite pas les Eaux de Luchon, parmi celles qu'il a étudiées, et depuis son ouvrage, nous n'avons pas connaissance qu'elles aient fait l'objet, à ce sujet, d'un travail particulier. Seule la thèse de Ricard, « Contribution à l'étude des Eaux de Luchon, Recherche expérimentale de leur action au cours des phénomènes d'anaphylaxie » (43), fait état d'injections au cobaye d'eau de Luchon (Pré n° 1).

Pourtant, devant les résultats obtenus à Luchon dans le rhumatisme chronique, où la carence en soufre est manifeste, on était

en droit de se demander si l'apport direct de cet élément par voie intramusculaire ne permettrait pas des résultats meilleurs et surtout plus rapides.

On s'explique d'autant moins à Luchon l'absence de ce mode thérapeutique, que les eaux de la station sont les plus sulfureuses des Pyrénées, et parmi les plus sulfureuses de France (9 centigr. par litre).

Sans doute faut-il voir à l'origine de cet oubli la difficulté apparente de se procurer une eau vraiment stérile (il en existe pourtant), la non isotonie des eaux, et enfin leur instabilité.

C'est pour cela que nous avons cherché à étudier, à Luchon, la possibilité d'employer des injections d'Eau sulfureuse comme moyen de cure d'une part, et comme complément de cure d'autre part.

La gamme des eaux sulfureuses y étant très étendue, nous avons volontairement laissé de côté, dans notre étude, les eaux sulfhydriquées qui se dissocient trop rapidement, les eaux de basse sulfuration, ainsi que celles à flore bactérienne trop riche.

Nous avons été amené ainsi, par cette première élimination, à porter toute notre attention sur quatre grands groupes d'eaux hyposulfitées et polysulfurées :

BAYEN — REINE — GROTTE SUPERIEURE — PRE N° 2

Notre travail va se diviser ainsi :

1) *ETUDE CHIMIQUE DE SOURCES ;*
2) *ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES SOURCES;*
3) *ETUDE DE L'ISOTONIE;*
5) *INJECTIONS A L'HOMME;*
6) *CONCLUSIONS.*

CHAPITRE PREMIER

ETUDE CHIMIQUE DES SOURCES

Notre but dans cette étude n'a pas été de reprendre les travaux de Willm (27) et du Professeur Lepape (30).

Ceux du Professeur Lepape, qui remontent seulement à quelques années, nous ont permis de limiter nos recherches aux quelques sources précédemment citées. Ce sont, en effet, les eaux les plus sulfurées et les plus stables.

Ayant aussi l'intention d'envisager l'utilisation pratique des eaux conservées, les examens que nous avons faits portent d'abord sur les eaux prises au griffon, et ensuite, sur les eaux conservées dans diverses conditions et pendant un temps plus ou moins long.

1) *METHODE EMPLOYEE POUR RECUEILLIR LES EAUX :*

On recueille les eaux thermales directement au griffon, dans des flacons absolument secs plongés dans le bassin du griffon, remplis jusqu'au bord et bouchés avec une capsule qui se visse sur le goulot (capsules en aluminium ou bakélite, car les capsules en fer sont très rapidement oxydées), en ayant bien soin de ne pas enfermer d'air.

De cette façon, l'eau n'a aucun contact avec l'air, et ne risque pas d'être oxydée.

Les résultats obtenus en employant cette méthode ont toujours été constants.

2) *SULFURATION DES SOURCES AU GRIFFON :*

La méthode de dosage employée est la méthode classique de

dosage par l'iode et l'hyposulfite de soude, en présence d'empois d'amidon.

Nous avons toujours utilisé des solutions centinormales préparées extemporanément à partir de solutions rigoureusement titrées d'iode et d'hyposulfite décinormales.

1 centimètre cube de solution normale d'iode correspond à 39 milligr. de SNa^2;

1 centimètre cube de solution normale d'iode correspond à 16 milligr. de S.

Les résultats qui vont suivre sont les moyennes de très nombreuses expériences faites aussitôt après la prise de l'eau au griffon.

SOURCES	TEMPERATURE au griffon	RESULTATS en SNa^2 (par litre)	RESULTATS en S (par litre)
BAYEN	66,6	70,6 milligr.	28,9 milligr.
REINE	57	69 »	28,3 »
GROTTE Sup	58	43,3 »	17,7 »
PRE N° 2	50,5	71,7 »	29,4 »

Si les résultats trouvés pour « PRE n° 2 » sont absolument identiques à ceux qu'avait trouvé le Professeur LEPAPE (30), on note une légère différence pour « REINE » et « BAYEN » et une plus grande pour « GROTTE ».

Le Professeur LEPAPE avait trouvé, en effet :

Pour REINE : 30 mmgr. de S par litre;
Pour BAYEN : 30,9 —
Pour GROTTE : 26 —

Ces différences peuvent s'expliquer par le fait bien connu et souvent signalé, qu'une eau sulfureuse subit des modifications d'une année à l'autre et même d'un jour à l'autre.

3) *MODIFICATION DE LA SULFURATION DES EAUX :*

Nous avons étudié la sulfuration des eaux dans les conditions suivantes :

1) Au Griffon :

Examen fait aussitôt après la prise au griffon. Prélèvement fait comme il a été indiqué précédemment. (Absence totale d'air.)

2) Après 24 heures :

Examen fait après 24 heures. L'eau recueillie au griffon est maintenue dans le récipient ayant servi à la prélever, sans être ouvert ni remué.

3) Après oxydation :

Examen fait après 24 heures. L'eau est recueillie dans un récipient non plein et non bouché, et agité de temps en temps.

4) Après 15 jours :

Examen fait 15 jours après la prise au griffon. L'eau recueillie est maintenue dans le récipient ayant servi à la prélever, sans être ouvert ni remué.

5) Après deux mois :

Mêmes conditions que ci-dessus, mais l'examen est effectué seulement au bout de deux mois.

ÉTUDE DE LA SULFURATION DES PRINCIPALES SOURCES

(Conservation en VERRE BLANC)

Résultats exprimés en milligr. par litre

SOURCES		Au griffon	Après 24 h.	Après oxydation	Après 15 j.	Après 2 m.
BAYEN	Na^2S	70,6	69	39,4	68,9	68,6
	S	28,9	28,3	16,1	28,3	28,1
REINE	Na^2S	69	68,6	29,6	68,2	59,3
	S	28,3	28,1	12,1	27,9	24,3
GROTTE S.	Na^2S	43,3	42,5	12,5	42,1	35,9
	S	17,7	17,4	5,1	17,2	14,7
PRE N° 2	Na^2S	71,7	70,9	40,8	70,2	68,6
	S	29,4	29,1	18,4	28,8	28,1

Dans toutes ces expériences, l'eau sulfureuse a été conservée en VERRE BLANC.

Les résultats donnés dans le tableau ci-dessus sont les moyennes de plusieurs analyses.

4) *OBSERVATIONS AU SUJET DE LA SULFURATION :*

A) Pour toutes les sources étudiées, il n'y a pas de modifications appréciables de la sulfuration dans les examens faits au bout de 24 heures, 15 jours et deux mois.

Dans les conditions d'expériences ci-dessus, les eaux se conservent parfaitement bien.

B) Après oxydation de 24 heures à l'air libre, la sulfuration baisse dans des proportions considérables. Nous percevons ainsi le rôle primorial que joue l'air dans l'oxydation des eaux sulfureuses.

Il est à remarquer que la perte de la sulfuration n'est pas proportionnelle à la sulfuration des sources examinées. Elle est sensiblement la même pour toutes les sources, ce qui fait qu'une eau peu sulfurée comme Grotte perd presque totalement sa sulfuration.

A noter aussi que certaines sources, par l'oxydation, blanchissent très rapidement : c'est le cas de « Grotte ». Ce phénomène du blanchiment est connu depuis très longtemps. Fontan (23) et Filhol (21), autrefois, et plus récemment J. Dufrenoy et R. Molinéry (19) en ont donné l'explication : précipitation de soufre avec dégagement de SH2.

5) *CONSERVATION DES EAUX :*

La nature du verre influe indiscutablement sur la conservation des eaux sulfureuses. Cette influence a été mise en évidence à Barèges par les travaux du Pharmacien Général Massy (31) et du Dr Cazaux (15). Nous avons repris à Luchon leurs expériences et nous avons constaté des résultats analogues à ceux qu'ils avaient obtenus.

Nous avons donc recueilli de l'eau des différentes sources dans des récipients en *verre blanc* d'une part, et en *verre jaune*, d'autre part.

Ces récipients sont entièrement privés d'air, ils ont la même contenance; ils sont conservés à l'abri de la lumière, en chambre noire.

Les résultats sont consignés ci-après :

ÉTUDE COMPARÉE DE LA SULFURATION EN VERRE BLANCS ET EN VERRE JAUNE

(Eaux conservées à l'abri de l'air et de la lumière)

Résultats exprimés en milligrammes par litre

SOURCES		Au Griffon	APRES 15 JOURS V. Blancs	APRES 15 JOURS V. Jaunes	APRES DEUX MOIS V. Blancs	APRES DEUX MOIS V. Jaunes
BAYEN	Na^2S	70,6	68,9	70,6	68,6	70,6
	S	28,9	28,3	28,9	28,1	28,9
REINE	Na^2S	69	68,2	68,7	59,3	68,2
	S	28,3	27,9	28,2	24,3	28
GROTTE S.	Na^2S	43,3	42,1	43,1	35,9	43
	S	17,7	17,2	17,6	14,7	17,5
PRE N° 2	Na^2S	71,7	70,9	71,4	68,6	71
	S	29,4	29,1	29,2	28,1	29,1

Le tableau précédent indique donc que la conservation est meilleure en *verre jaune neutre qu'en verre blanc ordinaire.*

6) *AUTRES CONSTITUANTS CHIMIQUES DE L'EAU THERMALE :*

Si le soufre est le principal constituant de l'eau de Luchon, à l'état de sulfure de sodium d'une part, et de sulfhydrate de sulfure de sodium, d'autre part, par suite de la combinaison de SNa2 avec SH2, il n'est cependant pas le seul.

D'autres substances chimiques ont été isolées (chlorures et carbonates alcalins, silicates, oxyde de fer, iode). Mais toutes sont à des doses infinitésimales.

Par contre, la RADIOACTIVITE de ces sources doit davantage être soulignée. Son association avec le soufre pourrait expliquer certaines vertus thérapeutiques et, à ce titre, elle n'est pas négli-

geable, bien que ces eaux soient hyperthermales, et que la radioactivité soit en rapport inverse de la température et de la sulfuration. (LEPAPE) (30).

De toute façon, cette radioactivité diminue très rapidement après la sortie du griffon et quels que soient les moyens de conservation, elle a à peu près disparu au bout de 48 heures.

On ne peut donc pas faire état de la radioactivité des Eaux sulfureuses dans le cas d'Eaux conservées.

7) *EXAMEN DU CULOT DE CENTRIFUGATION :*

L'examen a toujours été fait aussitôt après la prise au griffon.

BAYEN : Présence de rares cristaux de silice, de quelques débris végétaux et d'assez nombreux microorganismes vivants doués de mouvements très vifs.

GROTTE Sup. : Présence de quelques rares cristaux de sulfures noirs, de quelques débris végétaux et de nombreux microorganismes doués de mouvements très vifs.

REINE : Présence de quelques rares cristaux de silice et de sulfures noirs et de quelques microorganismes vivants.

PRE n° 2 : Présence de très rares cristaux de silice et de quelques très rares microorganismes vivants.

La grosseur de ces cristaux ou débris est de l'ordre de quelques microns.

8) *DETERMINATION DU pH :*

Cette détermination a été faite au moyen des réactifs colorés, qui permettent une approximation suffisante :

SOURCES	pH au griffon
BAYEN	8,6
GROTTE sup.	8,1
REINE	8,5
PRE N° 2	8,3

Signalons que ce pH ne se modifie pas sensiblement par oxydation de l'eau et que pour une eau conservée il ne varie nullement.

CHAPITRE II

ETUDES BACTERIOLOGIQUES DES EAUX

Dans ce deuxième chapitre, nous ne ferons qu'une étude bactériologique sommaire des quatre sources déjà étudiées au point de vue chimique.

1) *METHODE EMPLOYEE POUR RECUEILLIR LES EAUX :*

Nous nous sommes servi d'un flacon à double tubulure. L'une des tubulures contenant un filtre à air sert à l'aspiration. L'autre tubulure est reliée à un tube en verre qui plonge dans le griffon. L'ensemble de cet appareil est stérilisé à l'autoclave.

De cette façon, l'eau du griffon n'a absolument aucun contact avec l'extérieur.

2) *ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE « BAYEN » :*

10 cm3 d'eau prélevée comme nous venons de l'indiquer sont mis dans un tube de bouillon ordinaire, et le tube est porté à l'étuve à 37°

Un trouble apparaît en 18 heures, augmente très rapidement, et montre la présence d'une flore abondante formée par :

a) des microorganismes ayant une forme ovalaire, la partie centrale n'étant pas colorable, et présentant les caractéristiques du *Bacillus megaterium.*

b) de grands bacilles à gram positif présentant les caractères du *Bacillus subtilis.*

c) des petis bacilles à Gram négatif, prenant mal tous les colo-

rants. Ces bacilles sont légèrement vacuolés en leur centre, et possèdent des granulations. Ils présentent les caractères des THIOBACILLES.

d) On retrouve également quelquefois du *Bacillus mesentericus*.

La culture sur gélose donne les mêmes éléments.

Anaerobies : La culture sur gélose Veillon montre la présence de quelques germes anaérobies.

Nombre d'éléments : La culture sur gélatine montre la présence de plus de 100 microorganismes par centimètre cube.

Cette flore n'est pas pathogène : Nous avons, en effet, injecté à un lapin 1 cm^3 d'une émulsion en sérum physiologique d'une culture sur gélose contenant environ 500 millions de germes par centimètre cube. Le lapin ne présente aucune réaction, ni locale ni générale. Il continue à vivre normalement.

3) *EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DE « REINE » :*

La culture sur bouillon donne un trouble apparaissant en 24 heures. Au bout de 36 heures, il y a formation d'un voile dur et brillant sur la surface du bouillon.

La culture sur gélose envahit très rapidement toute la surface de celle-ci. Il s'y forme une couche brillante et dure ressemblant au voile qui se trouve sur le bouillon.

A l'examen nous avons retrouvé :

a) du *Bacillus megaterium* en quantité beaucoup plus grande que dans la source précédente. Ces microorganismes constituent le voile du bouillon et la surface dure de la gélose.

b) du *Bacillus subtilis*.

c) quelques THIOBACILLES.

Anaerobies : La culture sur gélose Veillon montre la présence de quelques rares colonies d'anaérobies.

Nombre d'éléments : Sur gélatine : 20 éléments par cm^3. De même que pour la flore de « Bayen », celle-ci n'est pas pathogène. Injectée à un lapin, dans les mêmes conditions que dans la précédente expérience, nous obtenons les mêmes résultats, aucune réaction ni locale ni générale.

4) *EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DE GROTTE SUPERIEURE :*

La culture sur bouillon donne un trouble apparaissant en 32 heures. Un voile apparaît au-dessus du bouillon. A l'examen nous avons trouvé :

a) du *B. megaterium.*
b) du *B. subtilis.*
c) du *B. mesentericus.*
d) Quelques rares THIOBACILLES.

La culture sur gélose donne les mêmes résultats.
ANAEROBIES : Quelques très rares colonies.
NOMBRE D'ÉLÉMENTS : 80 par centimètre cube.
Cette flore n'est pas pathogène. Injectée dans les mêmes conditions à un lapin, il ne se produit aucune réaction.

5) *EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DE « PRE N° 2 » :*

Sur 10 analyses effectuées 8 ont donné le résultat suivant :

ABSENCE DE TOUTE FLORE MICROBIENNE.

Les deux autres examens qui furent positifs n'ont révélés dans la culture que quelques rares éléments de *Bacillus megaterium.*

Un nettoyage complet du griffon a permis, après en avoir fait recimenter l'intérieur pour éviter les infiltrations, d'obtenir par la suite une eau absolument stérile.

A l'heure actuelle, nous pouvons affirmer, à la suite de très nombreux examens, que l'Eau de « PRE n° 2 » ne contient absolument aucun microorganisme.

TABLEAU RÉSUMANT L'EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE DES EAUX ANALYSÉES

SOURCES	Culture sur Bouillon	Nombre de Germes par cm3	Anaérobies	Saprophytes
BAYEN	en 18 h.	100	Présence	Présence
REINE	en 24 h.	20	Présence	Présence
GROTTE S. ..	en 32 h.	80	Présence	Présence
PRE n° 2	néant	absence	absence	absence

6) *CONCLUSION :*

De l'ensemble de ces faits, nous pouvons tirer une première conclusion : du point de vue bactériologique, et bien que nous ayons injecté au lapin la flore de chacune de ces sources sans obtenir la moindre réaction, l'eau de « Pré n° 2 » nous semble la plus intéressante du fait qu'elle est la plus pure des quatre sources examinées.

CHAPITRE III

ETUDE DE L'ISOTONIE DES EAUX

De ce qui précède, nous pouvons conclure que l'eau la plus sulfureuse et la plus bactériologiquement pure est la source « PRE n° 2 ».

C'est donc elle seule que nous emploierons en injections, et c'est uniquement de cette eau que nous allons nous occuper pour l'étude de l'isotonie.

Les eaux sulfureuses de Luchon ne sont pas isotoniques. Mis en présence d'un peu d'eau minérale, une gouttelette de sang s'hémolyse presqu'instantanément. Il y a phénomène d'endosmose, le globule rouge augmente de volume et éclate.

On sait qu'une eau n'a pas besoin d'être isotonisée pour être injectée, mais pour éviter la moindre réaction douloureuse (par la voie intramusculaire ou sous cutanée), il nous a semblé préférable de la rendre telle.

Pour réaliser cette isotonie, nous avons pensé employer le chlorure de sodium d'une part, et l'iodure de sodium d'autre part.

1) *ISOTONIE PAR L'IODURE DE SODIUM :*

L'isotonie est obtenue pour les proportions suivantes :

10 cm³ Eau de « Pré n° 2 ».
1 cm³ Solution de I Na à 10 % dans l'eau distillée.

On vérifie cette isotonie, en étudiant le comportement des globules rouges vis-à-vis de la solution obtenue. Avec la solution indiquée ci-dessus, les globules rouges restent absolument semblables à ceux du témoin (Sang dans sérum physiologique).

Cependant au bout de 24 heures, alors que le témoin n'a pas changé, l'hémolyse s'est produite dans la solution eau minérale + iodure de sodium. Ceci semble d'ailleurs du à l'action de l'iodure sur les globules rouges.

ACTION DE L'IODURE SUR LA SULFURATION :

Sous l'action de l'iodure, il aurait pu se produire une réaction ou une destruction de l'équilibre physico-chimique de l'eau thermale. Il n'en est rien.

Une eau qui contenait avant d'être rendue isotonique 71,5 mmgr de SNa2, contenait après l'isotonie effectuée 71,3 mmgr. de SNa2.

Par contre, au bout de 24 heures, la sulfuration n'était plus que de 58,3 mmgr.

On a donc intérêt à réaliser extemporanément l'isotonie. A noter que le pH n'est pas sensiblement modifié.

2) *ISOTONIE PAR LE CHLORURE DE SODIUM :*

L'isotonie est réalisée dans les proportions suivantes :

14 cm³ Eau de « Pré n° 2 »
1 cm³ Solution de Cl Na à 10 % dans l'eau distillée.

On vérifie cette isotonie de façon analogue à celle que nous avons employée pour l'iodure de sodium.

Mais ici l'absence d'hémolyse demeure et au bout de 24 heures aucune modification ne s'est produite.

L'isotonie est donc réalisée en dissolvant 6,66 gr. de Cl Na dans un litre d'eau de « Pré n° 2 ».

ACTION DU CHLORURE DE SODIUM SUR LA SULFURATION :

Sous l'action de ClNa, il aurait pu se produire également une destruction de l'équilibre physico-chimique de l'eau. De même que pour l'iodure de sodium, il n'en est rien.

Une eau qui contenait avant d'être rendue isotonique 71,8 mmgr de SNa2, contenait après l'isotonie effectuée 71,6 mmgr.

Par contre, après 24 heures de contact, la sulfuration n'était plus alors que de 64 mmgr de SNa2 (ceci, bien entendu, à l'abri de l'air et de toute oxydation).

On a donc intérêt, là aussi, à réaliser l'isotonie extemporanément.

De même que précédemment le pH n'est pas sensiblement modifié.

3) *CONCLUSION :*

C'est à cette dernière technique de l'isotonie par le chlorure de sodium que nous nous sommes arrêté.

Nous réalisons celle-ci d'une façon pratique en faisant des ampoules stérilisées contenant 7,32 centigr. de ClNa pour 1 cc. d'eau distillée. En ajoutant le contenu d'une ampoule à 10 cm^3 d'eau de « Pré n° 2 », on réalise l'isotonie à 6,66 grammes par litre.

CHAPITRE IV

INJECTIONS DE L'EAU DE « PRE n° 2 » A L'ANIMAL

Nous avons pris le lapin comme animal d'expérience. L'eau minérale est rendue isotonique au moment même de l'injection, grâce à la solution de ClNa précédemment indiquée, conservée en ampoules stériles.

PREMIERE EXPERIENCE :

On injecte sous la peau à un lapin de 1 kg 300, 1 cm^3 d' Eau de Pré n° 2» rendue isotonique.

Aucune réaction. L'animal continue à vivre normalement. Sa température n'est pas modifiée, sa formule sanguine pas davantage.

Par conséquent, comme cela était à prévoir, à faible dose, les eaux surfureuses ne produisent aucune réaction sur l'animal. (Et cependant cette dose correspondrait chez l'homme à environ 50 cm^3.)

DEUXIEME EXPERIENCE :

On injecte à un lapin de 1 kg 400, 10 cm^3 d'Eau de Pré rendue isotonique.

L'animal continue à vivre normalement. Sa température n'est pas modifiée.

La seule réaction que nous ayons remarqué est une augmentation des globules rouges du sang :

Avant l'injection le lapin avait 5.100.000 G. R. par mm^3, 8 heures après l'injection il avait 5.950.000 G. R. par mm^3 ;

24 heures après l'injection, le nombre de globules était redevenu normal.

De même, la formule sanguine est également légèrement modifiée. On constate une augmentation légère des polynucléaires neutrophiles et une diminution des lymphocytes.

Tout redevient normal en 24 heures.

TROISIEME EXPERIENCE :

Pendant 10 jours de suite, nous avons injecté à un lapin de 1 kg 450, 1 cm³ d'eau de « Pré n° 2 » rendue isotonique.

Le lapin n'a aucune réaction. Il continue à vivre normalement, et semble même, après la série de piqures, présenter une excitation durable et avoir un plus grand appétit.

CHAPITRE V

INJECTIONS EXPERIMENTALES A L'HOMME

Tout d'abord, avec M. le Docteur P. Molinéry nous avons pratiqué sur nous-mêmes une série d'injections d'eau de « Pré n° 2 », isotonisée extemporanément, par voie sous-cutanée, à la face externe de la cuisse.

Toutes ces injections ont été, fait important, complètement indolores au moment même, et admirablement supportées par la suite.

Toutefois, la première injection et la première seule a provoqué une réaction, légèrement dissemblable d'ailleurs, dont nous donnons ci-après l'observation.

PREMIERE OBSERVATION :

Injection de 5 cm³ faite à 19 heures. Les 24 premières heures, aucun trouble n'apparaît, le pouls et la température sont normaux.

Localement rubéfaction discrète, avec léger endolorissement. La deuxième nuit, insomnie marquée, énervement. Ces signes atteignent leur maximum 36 heures après l'injection, avec céphalée, sensation de fatigue, température à 38,2, pouls à 90, légère hypotension, et localement douleur un peu plus vive à la pression.

Au bout de 48 heures, tous ces troubles s'amendent.

DEUXIEME OBSERVATION :

Injection de 5 cm^3 faite à 19 heures. Les 24 premières heures, aucun trouble n'apparait encore, sauf localement légère rubéfaction et endolorissement.

30 heures après, disparition de tout symptome au point d'injection. Par contre, réveil d'une douleur au niveau de l'articulation scapulo-humérale, qui disparaît 48 heures plus tard.

Si nous insistons sur le fait que seule la première injection a provoqué les phénomènes dont nous venons de parler, phénomènes relevés par la suite chez toutes les personnes qui ont bien voulu se prêter à l'expérimentation, nous en arrivons à cette conclusion, que la réaction observée ne se différencie pas de ce qui a été souvent décrit sous le nom de « CRISE THERMALE », que tous les médecins hyrologues connaissent bien.

Cette crise thermale, après injections, est sans doute plus précoce et plus intense que la moyenne des crises obsrvées dans les pratiques hydriatiques ordinaires ,ce qui s'explique logiquement par l'introduction et la diffusion plus rapide du soufre dans l'organisme.

Comme les crises thermales des cures simples, elle subit une légère variation selon le tempérament de chaque sujet, assez forte chez l'un d'eux, insuffisant hépatique, plus faible et se résumant à un réveil d'arthralgie scapulaire chez un autre, sujet à des manifestations arthritiques.

CHAPITRE VI

CONCLUSIONS

De cette étude des Eaux sulfureuses de Luchon, employées en injections intratissulaires, il résulte :

1) Le groupe des Eaux polysulfurées de la station possède une source très fortement sulfurée, presque totalement stérile, et très stable sous certaines conditions :

L'EAU DE « PRE n° 2 »

2) Cette eau mise en ampoules de verre jaune absolument privé d'air se conserve admirablement pendant de longs mois.

3) Cette eau de « Pré n° 2 » est rendue isotonique au moment de l'emploi par l'adjonction de chlorure de sodium, sans que se modifie son complexe hydrominéral. Il s'agit d'une eau vivante et qui reste vivante.

4) L'injection de cette eau, tant à l'homme qu'à l'animal, est admirablement tolérée, si l'on en excepte toutefois la légère réaction provoquée par la première injection, analogue à la crise thermale habituelle des cures sulfureuses.

5) L'association de ce moyen thérapeutique nouveau aux autres pratiques thermales de Luchon, aussi bien pendant la cure, qu'entre les cures, devrait permettre des effets plus intenses et plus rapides pour toutes les affections traitées d'ordinaire dans la station.

6) L'eau de « Pré n° 2 » emplyée en injections, permettrait d'utiliser au mieux les résultats obtenus au point de vue Phylaxie, comme cela se pratique dans d'autres stations.

Avant de clore ce chapitre, nous voulons indiquer la technique que nous employons pour la conservation de l'eau de « Pré n° 2 » en ampoules :

L'eau recueillie au griffon, à l'aide d'un appareillage analogue à celui enployé pour les prélèvements bactériologiques, est répartie ensuite par simple siphonnage dans des ampoules de verre jaune rigoureusement neutre, préalablement stérilisées et fermées à un bout.

A l'extrémité du siphon se trouve une aiguille que l'on introduit dans l'ampoule. Cette dernière est remplie entièrement d'eau sulfureuse. (Tout l'appareillage, bien entendu, a été stérilisé auparavant.)

On ferme alors l'ampoule sur un bec Bunsen, en chauffant très fortement son extrémité, ce qui chasse l'excès d'eau et empêche l'air de pénétrer.

L'eau ainsi conservée garde sa sulfuration pendant très longtemps.

18 mois après la mise en ampoules nous avons fait des dosages, et la sulfuration n'avait baissé, selon les ampoules, que de 10 à 15 %.

Cependant, pour une conservation aussi longue, il est absolument indispensable que l'eau soit stérile. En effet, nous avons constaté qu'une eau contenant des germes (*B. megaterium*), si elle se conserve très bien pendant 2 ou 3 mois, perd par la suite sa sulfuration. Il y a formation dans l'ampoule de longs filaments de couleur brune. Lorsque ces filaments apparaissent, la sulfuration a disparu.

Un contrôle bactériologique est donc indispensable, et tout prélèvement qui ne serait pas stérile doit être rejeté.

QUATRIÈME PARTIE

LES AEROSOLS A LUCHON

Les expérimentations faites par le Professeur BINET, Doyen de la Faculté de Médecine de Paris, et par le Professeur DAUTREBANDE de Liège, sur les eaux sulfureuses de Luchon ayant révélé un pouvoir pneumodilateur puissant de nos eaux aérosolisées, une installation d'appareils producteurs d'aérosols fut réalisée à l'Etablissement thermal de Luchon.

C'est l'étude physico-chimique de ces aérosols d'Eau sulfureuse que nous avons l'intention de faire ici.

CHAPITRE I

DEFINITION ET PROPRIETES DES AEROSOLS

De même qu'une solution colloïdale est formée par des micelles solides en suspension dans un milieu liquide, de même les Aérosols sont formés par des micelles (1) liquides en suspension dans un milieu gazeux. (Il existe également des aérosols formés par des micelles solides en suspension dans un milieu gazeux.)

(1) Le terme de micelles employé par les auteurs pour désigner les particules formant les aérosols est impropre. On ne peut en effet les comparer d'une façon absolue aux micelles des solutions colloïdales, qui possèdent toujours une charge électrique de même signe.

La définition d'un Aérosol est donc la suivante : C'est un colloïde gazeux obtenu à partir de solution saline.

Les particules obtenues sont électrisées, qualité qui leur confère une grande stabilité. Ils échappent en partie aux lois de la pesanteur.

Pour posséder toutes ces qualités, les micelles des Aérosols doivent être d'une grosseur uniforme inférieure ou au plus égale à 2 microns. Ils ne doivent pas mouiller et, plusieurs heures après leur émission, des micelles doivent encore exister, une partie seulement ayant sédimenté.

L'Aérosol n'est pas mouillant, c'est là sa qualité première et indispensable. Comment expliquer que cette gouttelette d'eau ou de solution saline, si petite soit-elle, ne soit pas mouillante ? Plusieurs théories ont été émises pour expliquer ce phénomène, en particulier par les météorologistes en étudiant les brouillards naturels.

Certains auteurs (Lénard) (29) attribuent la stabilité des Aérosols à des phénomènes électriques.

Nous allons essayer de donner un résumé de cette thorie :

Lenard constate que l'eau (ou solution saline) dispersée d'une certaine façon, peut donner lieu à des phénomènes électriques, c'est-à-dire que la masse d'eau même devient positive et l'atmosphère dans laquelle une partie du liquide a été pulvérisée devient négative (cela a lieu aussi quand la dispersion se fait dans un autre gaz que l'air). Les différentes manifestations de ce phénomène dépendent du mode de dispersion de l'eau.

Le frottement air-eau ne donne pas l'explication de ce phénomène car lorsque l'eau circule librement sans être divisée, il ne se produit aucun phénomène électrostatique. Ces derniers ne se manifestent que lorsque l'eau est divisée partiellement en fines particules.

Lénard a été amené à admettre que la surface du liquide est formée d'une double couche, positive vers l'intérieur, négative vers l'extérieur, et qu'au cours de la pulvérisation les particules faisant partie de la couche extérieure négative seraient arrachées et communiqueraient ainsi leur charge à l'atmosphère ambiante.

Pour expliquer et prouver la formation ainsi que l'existence de cette double couche à la surface du liquide, Lénard fait le raisonnement suivant :

L'eau est un mélange de molécules plus ou moins polymérisées ; en tenant compte des forces intramoléculaires de Van der Wals, on constate que les molécules plus complexes ou polymérisées sont poussées à l'intérieur de la masse du liquide, alors que les molécules simples se réunissent à la surface. Entre ces deux couches se formerait une différence de potentiel.

Dans les cas de solutions salines, cette séparation peut également se faire par orientation des molécules, c'est-à-dire qu'elles présenteront vers l'extérieur leur partie la plus mobile et la moins dense (presque toujours négative), et vers l'intérieur la partie la plus lourde (presque toujours positive).

Pour que le phénomène se produise, il faut que l'eau soit pulvérisée d'une certaine façon, c'est-à-dire que seules les particules faisant partie de la couche négative soient arrachées à la masse et communiquent ainsi leur charge unique au milieu ambiant. Il en est ainsi lorsque l'eau est pulvérisée par succion d'un courant d'air ou par éclatement de bulles d'air. Dans le cas où toute la masse est pulvérisée (explosion, chute), il n'y aura aucun phénomène électrique, les charges positives et négatives émises dans le milieu ambiant étant de même importance. Dans le cas d'Aérosols de condensation, Il n'y aura pas non plus de phénomènes électrosttiques.

Nous pouvons donc avoir des particules neutres si elles ne sont pas dissociées, positives et négatives si elles sont dissociées.

La stabilité de l'Aérosol sera donc d'autant plus grande que le mode de pulvérisation aura permis de mettre en suspension uniquement des particules ayant une charge de même signe.

Pour une même concentration, la stabilité d'un aérosol augmente avec le degré de dispersion, passe par un maximum pour décroître ensuite. En effet, il ne faut pas qu'en raison de l'extrême dispersion, la distance entre les particules devienne assez faible, et le mouvement brownien assez fort, pour en favoriser l'agglomération.

Enfin, les aérosols tendent à se stabiliser en ce qui concerne leur charge électrique. Patterson [1] constate d'une part que les aérosols faiblement chargés tendent à prendre une charge au bout

(1) *Philosophical Magazine* XII, 1931, p. 1.175.

de très peu de temps, et que, d'autre part, les aérosols fortement chargés finissent par perdre une partie de leur charge. On peut en conclure que la charge des aérosols tend vers une valeur définie, quelque soit leur mode de préparation et l'importance de leur charge initiale.

Les derniers travaux de Dognon et Delaville (46) sur la Physique des Aérosols, que nous avons entendus à Paris en Octobre dernier à la journée des Aérosols organisée par la Société de Thérapeutique, semblent confirmer ces résultats.

Il nous semble cependant que cette stabilité des Aérosols, et leur propriété non mouillante soient dues aussi en partie à un phénomène de tension superficielle. La tension de la gouttelette d'un diamètre infiniment petit est en effet très grande.

Nous avons fait nous-même une expérience qui nous semble démontrer cette hypothèse :

Un aérosol, qui a 18 degrés n'est pas mouillant, devient mouillant si on chauffe la solution saline qui sert à le produire. Or la grosseur des micelles, toujours fournies par le même appareil, n'a pas varié. La chaleur par contre abaisse sa tension superficielle, et la stabilité de la micelle est diminuée.

C'est là une théorie que nous nous permettons d'émettre. Elle n'est peut-être pas valable pour les aérosols de condensation étudiés par les météorologistes, mais elle semble pouvoir s'appliquer aux aérosols obtenus par pulvérisation.

AUTRES PROPRIETES :

Les aérosols étant formés par des particules très petites, sont facilement dispersés et pénètrent aisément dans les moindres cavités où ils viennent sédimenter.

Du point de vue biologique, les aérosols pénètrent jusqu'au plus profond de l'alvéole pulmonaire, et par un phénomène de transfixion pulmonaire peuvent passer dans les capillaires, et de là dans la circulation sanguine.

C'est ainsi que si l'on fait inhaler à un sujet un aérosol de caféine ou de théobromine, la diurèse commence 4 à 6 minutes après, et continue plusieurs heures après l'inhalation.

Les aérosols pénètrent également dans les sinus (aérosols de sulfamides). On désinfecte les plaies profondes, à l'heure actuelle, par des Aérosols de Pénicilline.

CHAPITRE II

MODE DE PRODUCTION DES AEROSOLS

Pour réaliser des Aérosols, il faut pulvériser dans l'air sous une forte pression les solutions salines, qui sortent ainsi dispersées à une grande vitesse. A ce moment-là, il faut éliminer toutes les parties instables, c'est-à-dire toutes les micelles mouillantes dépassant la grosseur de 2 microns, et sur lesquelles les aérosols vrais viendraient se condenser.

Il faut également que toutes les micelles soient de grosseur sensiblement égales, autre condition de stabilité.

Les micelles de l'aérosol ne doivent pas non plus être trop petits (au dessous de 1/4 de micron), car leur stabilité est alors trop grande, et ils sédimentent difficilement.

La meilleure méthode de filtration pour éliminer les grosses micelles, est de faire passer toutes les particules formées à travers une couche liquide constituée par la solution saline servant de base aux aérosols. Seuls ces derniers traversent cette couche liquide.

Plusieurs méthodes sont employées pour obtenir ce résultat. Nous allons, ci-après, donner le principe de quelques-unes :

a) Un tamis métallique est disposé au-dessus du jet des particules. Sur ce tamis, les grosses micelles se déposent, formant un film liquide, où se condense tout ce qui n'est pas aérosols. Seuls ces derniers traversent ce filtre.

b) Le jet pulvérisé est dirigé horizontalement sur une paroi verticale. Le film liquide se forme sur cette paroi. Les grosses particules s'y condensent, et seuls les aérosols qui le traversent à l'aller et au retour sont recueillis.

c) Des plaques de verre mises en chicane au-dessus du jet pulvérisé, produisent également un résultat analogue, le film filtrant se formant sur chacune des chicanes.

d) On oblige les particules à repasser dans le jet sortant de l'éjecteur. L'éjecteur pulvérisant l'eau se trouve coiffé par une calotte parabolique, le point d'éjection étant en deçà du foyer de la parabole.

L'eau pulvérisée vient frapper sur cette calotte. Les grosses micelles s'y condensent, formant un film sur la calotte, ou sont réfléchies, mais ces dernières sont immédiatement absorbées par le jet sortant de l'éjecteur. Seules les petites micelles (aérosols) traversent ces différents filtres liquides, et sortent par la base de la coupole parabolique.

C'est ce dernier procédé qui est employé dans les appareils à Luchon. Il donne entière satisfaction.

Dans cette installation, les eaux pulvérisées et non transformées en aérosols sont évacuées, les eaux sulfureuses de Luchon, instables, ne pouvant être brassées et pulvérisées sans voir leur sulfuration baisser très rapidement.

Les aérosols d'eau sulfureuse passent ensuite dans une « chambre » munie d'un large regard transparent qui permet, par éclairage indirect du micro-brouillard formé, de s'assurer du bon fonctionnede l'appareil. Les aérosols sont inhalés à l'aide d'un masque à soupape, relié à l'appareil par un tube souple en caoutchouc annelé. On sait que les tuyaux de ce type retiennent la plupart des micelles instables qui pourraient accompagner les micelles stables de l'aérosol.

CHAPITRE III

ETUDE DES AEROSOLS D'EAU SULFUREUSE DE LUCHON

Cette étude a été faite d'après le protocole d'expérience suivant :

1) Rechercher si les appareils utilisés à Luchon donnaient bien de véritables Aérosols, et par conséquent étudier les caractères physiques des micelles obtenues.

2) Etudier la sulfuration des Aérosols.

3) Etudier le pouvoir pneumodilatateur de ces eaux utilisées en Aérosols.

4) Calculer le débit d'un appareil.

1) ETUDE PHYSIQUE DES AEROSOLS D'EAU SULFUREUSE OBTENUS AVEC LES APPAREILS DE L'ETABLISSEMENT THERMAL :

La première qualité d'un aérosol est d'être non mouillant. Ceux qui proviennent de nos appareils possèdent bien cette qualité :

Mis en contact prolongé avec un papier filtre, celui-ci reste sec.

Envoyé sur un miroir froid, il n'y a ni buée ni condensation.

En outre des Aérosols obtenus avec une solution concentrée de fuschine (5/100), amenés dans un flacon laveur d'eau distillée, ne cèdent après barbottage aucune coloration à cette eau. Cependant à la sortie du flacon laveur, si l'on fait sédimenter ces aérosols sur un buvard humide, celui-ci est taché en rouge.

MESURE DES MICELLES :

Un aérosol thérapeutique doit être formé de micelles de grosseur homogène dont le diamètre optimum oscille entre 1 et 2 microns.

Nous n'ignorons pas les critiques dont a fait l'objet la méthode de captage des aérosols par l'huile de paraffine (Brun et Pauthe-

NIER) (12) ; mais, placé dans des conditions beaucoup plus favorables que les météorologistes, nous avons pu l'utiliser avec succès.

Sur une lame de verre, nous étalons de l'huile de paraffine en couche très mince. Cette lame est mise sous le microscope, et nous faisons arriver directement dessus le jet d'aérosols. Les micelles se fixent sous certaines conditions que nous allons préciser, et il est possible alors de mesurer leur diamètre.

La température de la lame a une grosse importance. En effet l'aérosol ne se fixe, par une sorte de condensation, que si la température est assez basse. Mais par contre, si la température est trop basse, il y a étalement immédiat des micelles. Celles-ci se fixent dans l'huile, et par phénomène de tension superficielle, leur diamètre augmente immédiatement.

Si, au contraire, la température de la lame est trop élevée, les micelles s'évaporent aussitôt sans se fixer.

Par contre, à la température optimum, qui semble être celle où la lame est à une température égale à celle des aérosols, il y a une fixation fugitive des micelles, et leurs dimensions ne sont pas alors modifiées.

Dans ces conditions, et en prenant comme point de comparaison le diamètre d'une hématie, nous avons pu constater :

a) que ces micelles étaient toutes de dimensions sensiblement égales,

b) que leurs diamètres étaient compris entre 1 et 2 microns.

Ces résultats ont été contrôlés par M. DESSENS, chargé de recherches C. N. R. S. et spécialiste des micro-brouillards qui, par captage sur fil d'araignée et mensuration par la photo-micrographie, a trouvé pour les aérosols d'un appareil en service à l'établissement, un diamètre oscillant entre 1,6 et 2 microns.

Nous pouvons donc affirmer que l'appareillage de nos Thermes donnent bien de véritable aérosols.

2) SULFURATION DES AEROSOLS D'EAU DE LUCHON :

a) Du point de vue caractères organoleptiques, toutes les Eaux qui ont été essayées (Bayen, Pré n° 2, Grotte, Richard) donnent des aérosols possédant l'odeur caractéristique des eaux sulfureuses.

En faisant condenser, à la sortie de l'appareil, les aérosols d'eau sulfureuse sur un papier à l'acétate de plomb préalablement mouillé (pour qu'il y ait sédimentation) il y a, en quelques instants, noircissement léger de ce papier réactif.

b) Dosage du soufre : Le dosage direct du soufre thermal dans l'eau de condensation des aérosols n'est pas concluant. En effet, même en opérant très rapidement la précipitation et la coalescence des gouttelettes à l'aide d'un appareillage électrique spécial, il est à craindre que ce nouveau changement d'état n'apporte des perturbations dans la sulfuration de nos eaux, toujours plus ou moins instables.

Il nous a paru préférable de doser le soufre dans les eaux de filtrage. Celles-ci proviennent des gouttelettes émises par l'éjecteur en même temps que les aérosols, mais qui d'un diamètre supérieur, ont constitué le filtre liquide des aérosols.

Soumises à la même pression, au même brassage que les aérosols, elles possèdent donc une sulfuration sensiblement analogue. De plus leur coalescence s'est effectuée spontanément et sans changement d'état.

Nous avons donc recueilli cette eau de filtrage (l'appareil permet de le faire aisément) et nous y avons dosé le soufre.

Il a été trouvé, en grammes de S Na 2 par litre, pour les sources « Bayen » et « Pré n° 2 » :

	Bayen	Pré n° 2
Avant aérosolisation	0,065	0,071
Après »	0,047	0,058

Les pertes de sulfuration ont donc été de 28 % pour « Bayen » (grande source polysulfurée) et seulement de 17 % pour « Pré n° 2 » (source hyposulfitée). Dans les deux cas, l'eau conserve une sulfuration suffisante.

Nous avons aussi étudié, en fonction du temps, la variation de sulfuration quand l'appareil fonctionne en circuit fermé, sans eau courante et sans évacuation des eaux de filtrage.

Pour la source « Bayen », on a trouvé (en grammes de S Na 2 par litre) :

	Avant aérosolisation	0,065
2 minutes	après »	0,053
5 »	»	0,041
10 »	»	0,030

Ces derniers résultats suffisent à montrer l'avantage de faire fonctionner l'appareil sur eau courante.

Il résulte également des essais précédents que les appareils des Thermes de Luchon devraient être alimentés par une source hyposulfitée plutôt que par une source polysulfurée.

3) ETUDE DU POUVOIR PNEUMODILATATEUR DES AEROSOLS D'EAU DE LUCHON :

L'action pneumodilatatrice des aérosols d'eau sulfureuse s'est révélée constante chez tous les sujet sains soumis à l'expérimentation. Elle se traduit par un abaissement du rythme respiratoire, variable avec les individus, mais toujours notable.

Voici le résultat détaillé d'une série d'expériences effectuées sur deux sujets :

Nbre de respirations par minute avant aérosols	Durée de l'aérosolisation	Nbre de minutes après aérosolisation	Nombre de respirations	Pourcentage d'abaissement
21	2 min.	5	15	29 %
		30	17	19 %
		60	19	10 %
		90	20	6 %
16	5 min.	5	10	38 %
		30	13	25 %
		60	14	14 %
		90	15	7 %
16	10 min.	5	10	38 %
		30	12	31 %
		60	14	14 %
		90	15	7 %

Il faut indiquer également que cette action pneumodilatatrice ne commence que quelques minutes après l'inhalation (4 à 5 environ). Si l'on compte le nombre de respirations aussitôt après l'aéro-

solisation, il n'y a qu'un très faible abaissement. Cela s'explique sans doute par le fait qu'il faut laisser le temps aux aérosols de se sédimenter dans l'alvéole pulmonaire afin de produire le phénomène.

Les chiffres du tableau précédent montrent que la pneumodilatation, très importante, dure au moins 1 heure 30. Il semble, en effet, qu'une légère amplitude respiratoire persiste de nombreuses heures après l'aérosolisation. Ils montrent également que la durée optima de l'inhalation, si on ne recherche qu'un effet local, se situe entre 4 et 10 minutes, temps qui n'amène aucune gêne ni aucune lassitude.

Après aérosolisation prolongée pendant 1 heure 30, nous n'avons ressenti aucune impression de fatigue, sauf toutefois une légère sécheresse des muqueuses du nez et de la gorge. La pneumodilatation obtenue n'était pas supérieure à celle trouvée après 10 minutes d'inhalation. Ce fait semble facilement s'expliquer : il existe une limite pour l'action pneumodilatatrice, qui est obtenue lorsque les alvéoles pulmonaires sont entièrement saturés. C'est alors, sans doute, que les micelles de l'aérosol traversant les capillaires, passent dans la circulation sanguine. Pour une action générale, il faudrait prolonger la durée de l'inhalation, mais pour une action locale, cela est inutile.

Nous avons comparé les résultats obtenus, d'abord avec ceux qui ont été fournis par des aérosols d'eau distillée, qui ne donnent aucun abaissement du rythme respiratoire, et ensuite avec ceux fournis par l'inhalation d'aérosols d'Aleudrine, pneumodilatateur puissant.

Nous avons fait des aérosolisations avec une solution à 1/500 d'aleudrine, la solution du commerce à 1/100 n'étant pas supportée (elle produit presque aussitôt des palpitations et une sécheresse de gorge très désagréable). Ces phénomènes se retrouvent avec la solution à 1/500 et il est difficile de faire plus de 20 à 25 aspirations profondes sans les ressentir.

L'aérosolisation avec cette solution d'aleudrine à 1/500 nous a donné (moyenne de plusieurs expériences) un abaissement du nombre de respirations atteignant :

Pour 10 inspirations profondes : 26 %.
20 » » 44 %.

L'action paraît persister un peu plus longtemps qu'avec l'eau sulfureuse (2 heures environ).

Cependant, de ces premiers résultats, on peut conclure que l'eau de Luchon, administrée sous forme d'aérosols, possède un pouvoir pneumodilatateur voisin de celui de l'Aleudrine, mais avec l'avantage de présenter une inocuité absolue.

4) DEBIT DES APPAREILS :

L'appareil fonctionnant en vase clos, c'est-à-dire sans récupération des eaux de filtrage, consomme environ 20 à 25 centimètres cubes d'eau par heure.

Avec écoulement des eaux de filtrage, le débit horaire atteint 2 litres 500.

Le débit d'air sous une pression de 2 kilogs, pression nécessaire et suffisante pour la bonne marche des appareils, est d'environ 20 litres minute.

Les caractéristiques des appareils en fonctionnement normal sont donc :

— Pression : 2 kilogs.
— Débit gazeux de l'aérosol : 20 litres minute.
— Débit liquide : 23 centimètres cubes heure.
— Densité de l'aérosol : 0,019 centimètre cube par litre.
— Dimensions des gouttelettes : 1,5 à 2 microns.

La dispersion des micelles, dont le nombre par litre d'aérosols se chiffre par milliards, est d'environ 60 fois leur rayon.

Leur tension superficielle est voisine de 1.500.000 baryes et leur vitesse de chute libre est inférieure à 8 millimètres minute. On voit donc qu'ils offrent une grande stabilité.

CONCLUSION

Nous n'avons pas ici l'intention de donner des résultats thérapeutiques : ce n'est pas notre rôle.

Nous pouvons cependant affirmer que les résultats obtenus dans les traitements par l'aérosolisation de l'Eau de Luchon permettent de conclure que les aérosols d'eau sulfureuse soulagent les insuffisances respiratoires, au même titre que les aérosols médicamenteux pneumodilatateurs.

De plus, cette méthode permettant de porter jusqu'au plus profond des alvéoles pulmonaires les eaux à l'état d'ultradispersion, elle ne peut que favoriser leurs actions normales (antiseptiques et antitoxiques).

Ce nouveau traitement permettra aussi ultérieurement d'essayer l'utilisation de ces mêmes eaux par voie de transfixion pulmonaire.

CINQUIEME PARTIE

ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE LA BAREGINE DE LUCHON ET DE SES PROPRIETES ANTIBIOTIQUES

L'étude bactériologique que nous avons faite dans la troisième partie de ce travail nous a montré que, dans les sources étudiées, vivaient, en plus de quelques microbes saprophytes (*Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus...*) des microorganismes particuliers, à caractères spéciaux, qui nous ont paru être des éléments de cette matière muqueuse qui flotte librement ou se dépose en abondance dans les Eaux sulfureuses et que l'on appelle Barégine, nom qui lui a été donné du fait que les Eaux de Barèges en contiennent de très grandes quantités.

Nous avons donc été amené, pour parfaire l'examen bactériologique des eaux sulfureuses, à étudier de ce point de vue cette Barégine et à voir si elle ne pouvait pas posséder des propriétés particulières, propres à apporter à la thérapeutique un nouvel agent susceptible de rendre des services appréciables.

Cette partie de notre travail comprendra donc :

1° Un historique bref des connaissances actuelles concernant la Barégine ;

2° Une étude bactériologique des barégines de Luchon et de Barèges ;

3° Une étude des propriétés antibiotiques de la Barégine.

CHAPITRE I

HISTORIQUE

Le *Journal de Barèges* de 1932, dans le compte rendu de la « Journée de la Barégine » (28) en donne un historique complet. Nous en avons extrait, en particulier de l'article du Professeur FOURMENT, les renseignements suivants :

Il semble que la première mention qui soit faite de la Barégine remonte à 1670, avec la présentation par DUCLOS des Eaux de Barèges à l'Académie des Sciences Royales à Paris.

Mais c'est le nom de BORDEU, le grand hydrologue du XVIII^me^ siècle, qui est attaché aux recherches initiales sur la Barégine.

On en retrouve également une étude éparse, mais complète, dans le *Journal de Barèges* de 1749 à 1780.

Cependant, si l'analyse chimique avait déjà donné quelques résultats sur la constitution de ce produit, on était encore loin de sa connaissance parfaite et de la certitude de son origine.

Sir MEIGHAN, en 1742, avait émis, le premier, l'idée que la Barégine pourrait bien être une matière organisée. Cette hypothèse sera combattue et défendue tour à tour pendant près d'un siècle.

C'est ainsi que BORDEU père et Théophile de BORDEU ne voyaient dans la Barégine qu'une « matière graisseuse » analogue au blanc d'œuf ; que LEMONNIER, en 1747 la comparaît au frai de grenouille, que BAYEN, en 1765, la regardait comme un mélange de soufre et de terre, unis par une portion de matière grasse, et que RAMOND, en 1787, y voit une substance grasse qui s'y trouve dans un état savonneux.

Les productions particulières des Eaux sulfureuses ont porté, jusqu'en 1823, les appellations les plus diverses (soufre argileux de DUCHANNOY, terre bitumeuse de CAMPARDON, zoogène de GIMBERNAT, matière graisseuse, substance glaireuse, graisse ou limon des eaux...). Le baptême de la Barégine date d'une publication

faite en 1823 par Bonchamp : « J'ai appelé, dit-il, la Barégine, une matière azotée que j'ai trouvée, pour la première fois, à Barèges, dans son plus grand état de pureté. Tout nom significatif appliqué à une substance simple, ou que l'on considère simple en faisant abstraction de sa composition, sera toujours le mauvais nom, mais il le sera encore bien plus lorsque la signification offrira une image repoussante. Ainsi on a proposé d'imposer à la Barégine le nom de glaire parce que, dit-on, elle ressemble à des glaires, ce qui n'est nullement vrai. Mais cela fut-il, on ne peut pas dire à une jeune femme qui prend l'eau de Saint-Sauveur pour calmer une susceptibilité nerveuse, qu'elle boit une eau contenant des glaires ».

Depuis, le nom de Barégine a prévalu et s'applique aujourd'hui à toutes les productions hydrominérales de semblable origine et d'apparence voisine.

Après Sir Meighan, ce n'est qu'en 1834 que Ballard, dans son remarquable « Essai sur les Eaux thermales de Barèges » s'aventure à dire que cette matière pourrait avoir un commencement de vie et même d'animalisation.

Séguier, en 1836, s'aperçoit qu'à un grossissement suffisant, cette Barégine a l'apparence de tubes moliniformes, formés d'alvéoles juxtaposés.

Mais c'est à Fontan, en 1853, que revient l'honneur d'avoir découvert que sa « Pyrénéine », comme il l'appelait, était une substance organisée, habitée par une conferve qu'il appela « sulfuraire » en raison de son existence dans les eaux sulfureuses.

A partir de cette date, l'étude de la Barégine se poursuit, tant au point de vue chimique que micrographique, et avec Lambron, les recherches biologiques sembleront, malgré les analyses chimiques de Filhol (1860), fixer tout particulièrement l'attention.

Désormais le rôle que jouent les éléments vivants dans la Barégine fera l'objet de nombreux travaux.

En 1870, Cramer identifie les granulations de soufre.

Armieux, un peu plus tard, indique que la Barégine est formée de deux substances : 1° une matière organique azotée et iodée ; 2° des êtres organisés vivants, végétaux et animaux...

La part qui revient à chaque élément vivant dans la formation

de la Barégine ne sera établie que bien plus tard. Cependant, il faut citer les recherches fondamentales de Trévisan et Winogradsky, qui ont nettement dégagé de la multitude des organismes végétaux et animaux les éléments « nobles » de ce produit. Ces auteurs ont, en effet, retrouvé dans la Barégine et les productions analogues la présence constante de bactéries sulfureuses bien particulières, qu'ils ont classées méthodiquement et dont Winogradsky a, par la suite, étudié la morphologie et tenté la culture.

Cette étude, abandonnée pendant longtemps, a été reprise en 1919 par le Docteur R. Molinéry et Dufrenoy (18) et, plus tard, par le Professeur Fourment (24).

C'est un résumé de ces études que nous allons donner maintenant ; il constitue, à l'heure actuelle, tout ce que l'on connait sur la biologie de la Barégine.

CONSTITUTION BIOLOGIQUE DE LA BAREGINE :

La Barégine de Barèges, comme celle de Luchon, est constituée par des Thiothrix (*nivea* et *tenuis*) (Winogradsky). Ces microorganismes se présentent sous la forme de filaments longs de 2 à 3 centimètres, non motiles. Leur diamètre varie entre 1 et 2 microns. Ils sont enrobés, sur toute leur longueur, dans une gaine mucilagineuse très mince, riche en ferments oxydants.

Cette gaine mucilagineuse semble, d'après les travaux de Fourment, être produite par une bactérie thermophile découverte par R. Molinéry et non dénommée, bactérie vivant uniquement dans les eaux thermales sulfureuses et possédant des propriétés microbicides. Ces propriétés sont ensuite conférées à la Barégine du fait de la formation de cette « glairine » autour des éléments de Thiothrix.

Cette bactérie thermophile paraît donc être le microorganisme le plus important de ceux qui favorisent le développement de la Barégine.

La base de ces filaments, recourbée en crosse, est fixée sur un support quelconque par un petit coussinet muqueux, tandis que l'autre extrêmité flotte librement dans l'eau thermale.

Sous un grossissement convenable, ils paraissent cloisonnés et constitués par une série de cellules cylindriques, incolores, remplies lorsqu'elles sont adultes de granulations de soufre.

L'organisation des *Thiothrix* est donc très rudimentaire ; elle rappelle celle des bactéries (Thiobactéries ou Sulfobactéries).

Le soufre intravacuolaire est le premier terme visible de l'activité vitale des *Thiothrix,* qui se manifeste par l'oxydation de S H2 ou des sulfures alcalins contenus dans l'eau thermale. Cette oxydation libère une certaine quantité de calories indispensables à la vie de ces infiniment petits, qui sont privés de chlorophylle, de bactériochlorine et de bactériopurpurine. Cette combustion lente ne s'arrête d'ailleurs pas à ce premier stade. Le soufre intracellulaire est brûlé à son tour, au cours d'une seconde oxydation libératrice d'énergie, et transformé en composés oxygénés salifiés dès leur apparition par les carbonates alcalins de l'eau minérale. La formation de sulfates s'accompagne du dégagement de CO2 et le milieu conserve sa réaction alcaline (Fourment).

Winogradsky a démontré que le soufre contenu dans ces Thiobactéries se présente sous forme de gouttelettes d'une consistance huileuse bien plus soluble dans les solvants organiques que le soufre cristallisé ou amorphe. Ce soufre est à l'état mou et non à l'état colloïdal.

Lorsque les Thiothrix ont atteint leur taille limite, les cellules du tiers inférieur des filaments ne contiennent plus de soufre. Elles ont perdu tout pouvoir oxydant, ce sont des cellules mortes. Bientôt sous l'influence des courants liquides, les cellules basales se brisent et les Thiothrix viennent se collecter sous forme de flocons d'un blanc jaunâtre, au fond des réservoirs où stagne l'eau sulfureuse. Privées d'oxygène, toutes ces cellules ne tardent pas à mourir et cette disparition de la vie se transmet, de proche en proche, des cellules basales aux éléments terminaux.

A ce moment entrent en jeu des organismes nouveaux : microbes et moisissures qui président à la formation de la Barégine. Leur rôle se résume en une hydrolyse plus ou moins parfaite des gaines mucilagineuses des parois des Thiothrix, et en une digestion des protides de leur protoplasma.

Ces microbes et moisissures ne se trouvent en pleine barégine que dans les eaux qui ont perdu une partie de leur calorique, après un séjour dans des réservoirs et canalisations plus ou moins souillées.

Un optimum thermique est nécessaire au développement de ces microorganismes (entre 15 et 45 degrés). La température de l'eau est, en effet, susceptible d'influencer l'aspect d'une flore thermale. A Barèges, par exemple, comme à Luchon d'ailleurs, on ne rencontre pas de *Beggiatoa* qui préfèrent les eaux froides et stagnantes aux eaux chaudes et courantes dans lesquelles les *Thiothrix* prolifèrent abondamment.

Deux autres facteurs sont encore nécessaires, d'après les auteurs précédemment cités : 1) Présence d'un sulfure alcalin ou de SH^2 dissout dans l'eau, même en quantité infinitésimale. - 2) contact ou voisinage de l'air, l'oxygène étant indispensable à la vie des Thiothrix.

En plus des Bactéries Thermophiles éléments spécifiques, Fourment a trouvé dans la Barégine les microbes suivants :

Bacillus subtilis, B. mycoides, B. fluorescens, B. mesentericus vulgatus, B. megatérium, B. ferrugineus, B. luteus, quelques *Micrococcus,* des levures rappelant les *Torula,* des *Cladothrix,* des moisissures (Pénicilles, Mucors), et un Hyphomycète à hyphes et conidiophores de coloration foncée, probablement du genre *Cladosporium.*

Ces saprophytes ajoutés à la flore des sulfuraires forment des phytoglées tout autour des *Thiothrix* en voie de décomposition. Et l'ensemble, Barégine proprement dite, produit végéto-minéral d'aspect muqueux, flotte à la surface de l'eau thermale et affecte la forme de vastes gateaux grisâtres, à contour polycycliques, à surface sèche et croûteuse par endroits.

CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA BAREGINE :

En plus du soufre contenu dans les *Thiothrix*, ces productions végéto-minérales retiennent, par un phénomène d'absorption commun à la plupart des mucilages, une grande variété d'éléments minéraux. La proportions de ces éléments dans la barégine est

souvent très élevée par rapport à la quantité infinitésimale de ces mêmes principes dans l'eau thermale. (Matruchot et Desroches ne signalent-ils pas une végétation sulfureuse dans la pièce d'eau des Suisses à Versailles ?) (32-33).

Filhol (loc. cit.) donne, pour 100 gr. de Barégine désséchée : 49 gr. de cendres, ce chiffre variant d'ailleurs suivant l'état de désorganisation plus ou moins avancée des *Thiothrix*, la nature de la source et l'état des réservoirs dans lesquels se forme la Barégine.

En plus des matières organiques et du soufre contenu dans les 100 gr. de Barégine, Filhol a trouvé pour les 49 gr. de cendres :

Carbonate de chaux	28 gr.	Carbonate de magnésie	Traces
Silice	16 gr. 20	Sulfate de chaux	»
Chlorure de sodium	0 gr. 60	Phosphate de magnésie	»
Phosphate de chaux	0 gr. 20	Oxyde de fer	4 grs

Les sels de fer (sulfates et carbonates) englobés dans les magmas mucilagineux sont continuellement transformés par les microorganismes des barégines. Ils passent par des phases successives de réduction et d'oxydation, et sont toujours en équilibre instable. Lorsqu'ils sont inclus dans la barégine immergée, ils sont hydrogénés par les bactéries réductrices et transformés en sulfure de fer, qui donne aux mucilages une teinte variant du gris clair au noir le plus intense. Par contre, si la barégine remonte en surface, le sulfure de fer fixe de l'oxygène au contact des bactéries oxydantes (les *Thiothrix* vivants en particulier), se transforme en ses produits d'oxydation, et la coloration noire disparaît.

Ce cycle du fer s'observe d'ailleurs très bien *in vitro* ; la barégine conservée dans un flacon hermétiquement clos et soigneusement rempli noircit très rapidement dans ce milieu privé d'air, où seuls, en effet, peuvent vivre et travailler les anaérobies réducteurs.

Inversement, exposée largement à l'air, cette barégine noire se décolore très vite.

Comme autres éléments minéraux contenus dans la barégine, les auteurs signalent l'arsenic, le cuivre, l'alumine, le manganèse.

Tous ces éléments minéraux unis à des matières organiques, constituent un milieu nutritif extrêmement favorable au développement des microbes générateurs de barégine. L'eau thermale, par

contre, extrêmement pauvre, est un mauvais milieu vital dans lequel les microorganismes paraissent tellement rares que certains auteurs, comme Izard et Pinat (26), ont cru devoir reconnaître à cette eau des vertus bactéricides.

Le mucilage des barégines est formé en majeure partie de glucosanes, ce qui n'a rien d'étonnant, puisqu'ils proviennent de l'hydrolyse des parois cellulosiques des *Thiothrix*. On y retrouve également un peu de galactose.

Une partie de ces composés sont solubles et sont entrainés dans l'eau thermale. Celle-ci devrait une partie de ses propriétés (signalons en particulier son onctuosité) à ces composés solubles, ainsi d'ailleurs qu'aux microorganismes qui sont également entrainés.

L'apparition des divers éléments constituants la Barégine se fait donc ainsi :

1) Développement des *Thiothrix*, avec formation d'une gaine mucilagineuse due aux Bactéries thermophiles.

2) Mort et désorganisation de ces éléments sous l'influence de microbes divers, l'ensemble donnant les gelées de barégine.

3 Enfin une hydrolyse avancée des parois végétales, avec mise en liberté de principes solubles dans l'eau minérale.

Telle est, en résumé, en particulier d'après les données de Fourment, R. Molinéry et Dufrenoy, la constitution de la Barégine :

« Complexe organique et minéral, habité par des zooglées microbiennes, parmi lesquelles certaines paraissent formées d'éléments spécifiques, les autres par des saprophytes vulgaires. »

CHAPITRE II

ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES BAREGINES DE LUCHON

Depuis longtemps, au point de vue purement empirique, on connait, tant à Luchon qu'à Barèges, les propriétés de la Barégine. Déjà, les médecins et apothicaires du 18me siècle préconisaient l'emploi de cette glairine tant en thérapeutique interne qu'en applications externes.

Nous avons, à notre tour, fait des essais avec la barégine de Luchon, particulièrement sous la forme de pommade, et cela avec plein succès, en particulier dans toutes les dermatoses d'origine microbienne. (Des essais ont été faits à l'Hôpital St-Louis et à Bicêtre.)

C'est alors que l'idée nous est venue de voir qu'elle était l'action de ce produit sur les différents microbes, au point de vue purement expérimental.

Nous avons donc mis dans une culture de Staphylocoques sur bouillon nutritif ordinaire, un petit fragment de Barégine pure : au bout de trois jours, le Staphylocoque avait complètement disparu. On retrouve seulement une diversité très grande de microorganismes, qui sont les bactéries vivant dans la barégine.

Ce ne sont pas les composants minéraux de la barégine qui agissent. Ceux-ci en effet, sont en trop faible quantité pour pouvoir détruire le staphylocoque, la quantité de barégine mise en œuvre étant infime. Ce n'est pas, non plus, une modification du pH du milieu qui produit ce phénomène, celui-ci n'étant pas modifié.

Nous avons donc été amené à conclure que c'était un ou plusieurs des microorganismes de la barégine qui possédaient ces propriétés bactéricides.

Nous avons donc voulu rechercher cette ou ces bactéries, pensant dès l'abord que pour conférer à cette barégine de semblables propriétés, il fallait qu'elles aient vraiment un pouvoir antibiotique élevé.

C'est pourquoi nous avons du reprendre toute l'étude bactériologique de la Barégine.

Et ce sont ces travaux que nous allons résumer ici.

Mais auparavant, nous tenons à remercier M. le Professeur Machebœuf, de l'Institut Pasteur, qui nous a conseillé, a vérifié une partie de nos essais, nous a ouvert ses laboratoires et nous a permis d'arriver ainsi plus rapidement aux termes de ce travail. Sans ses conseils, nous ne serions certainement pas arrivé à résoudre certains problèmes.

C'est ainsi que la séparation de certaines espèces de bactéries s'est montrée très difficile, pour deux raisons :

a) quelques-unes semblent vivre en symbiose, et meurent une fois la séparation faite, de sorte que l'on ne peut pas conserver les cultures.

b) une des bactéries des plus intéressantes, comme nous le verrons par la suite, secrète une matière visqueuse et, malgré toutes les précautions prises, entraine avec elle, accrochée à cette sécrétion, d'autres germes qui viennent souiller les cultures.

Avant de commencer toute étude, il nous a fallu trouver un milieu favorable à ces bactéries. Après bien des tatonnements et de longues recherches, nous avons mis au point les milieux suivants :

MILIEU LIQUIDE, que nous appellerons *BOUILLON S :*

Hyposulfite de soude	2 gr.
Bicarbonate de soude	1 gr.
Chlorure de sodium	0 gr. 50
Phosphate de soude	0 gr. 10
Chlorure de magnésium	0 gr. 10
Péptone de viande	5 gr.
Eau distillée	1.000 cc.

Le pH du milieu doit être compris entre 8 et 8,5. On y arrive par adjonction soit d'acide phosphorique soit de bicarbonate de soude.

MILIEU SOLIDE, que nous appellerons *GELOSE S* :

C'est le même milieu que précédemment. On y ajoute simplement 25 grammes de gélose.

Le pH doit être compris entre 8 et 8,5.

METHODE DE SEPARATION DES GERMES :

Nous avons employé la méthode classique de séparation sur boite de Pétri.

Nous sommes partis de la Barégine de Luchon, diluée dans de l'eau distillée, et nous ensemençons sur boite de Pétri, où était coulé de la gélose S (le tout stérile bien entendu).

Nous mettons à l'étuve à 32 degrés, température qui s'est révélée comme étant la température optima. C'est d'ailleurs celle à laquelle la barégine pousse dans l'eau sulfureuse avec le plus de facilité et le plus abondamment.

Chaque colonie différente, obtenue entre 6 et 72 heures, était prélevée et ensemencée sur bouillon S et gélose S, ces milieux étant alors remis en culture.

Nous obtenions ainsi, la plupart du temps, des cultures pures. Si celles-ci ne l'étaient pas, nous procédions, de nouveau, à un isolement sur boite de Pétri, et nous arrivions finalement à obtenir des cultures ne contenant qu'une seule espèce de bactéries.

Nous verrons, dans l'étude que nous ferons de chaque microorganisme, que pour certaines espèces, cette séparation s'est révélée difficile, et qu'il a fallu employer des moyens spéciaux pour les obtenir à l'état pur.

En procédant ainsi, nous sommes arrivé à isoler TREIZE ESPECES DIFFERENTES DE BACTERIES.

Nous allons en donner ci-après les principaux caractères :

ÉTUDE DES DIFFÉRENTS GERMES DE LA BARÉGINE DE LUCHON :

1re *espèce* . — GERME A :

Petits bacilles à gram négatif, se colorant très difficilement. On obtient cependant une bonne coloration en les traitant par la fuschine phéniquée pure à chaud pendant 15 minutes.

Ces bacilles qui ont une dimension de 1,5 mu environs sur 0,5 mu, sont à granulations internes, et présentent, au bout de quelques jours de culture, une petite vacuole centrale non colorable.

Ils poussent rapidement sur gélose S, et donnent en 24 heures des colonies épaisses et jaune-doré, se détachant facilement de la gélose.

Ils semblent rentrer dans la catégorie des *Bacillus ferrugineus*.

2me *espèce*. — GERME B :

Petits bacilles à Gram négatif, prenant assez facilement les colorants habituels.

Ces bacilles trapus ont une dimension de 0,6 mu sur 0,5 mu environ. Ils ressemblent presque à des cocci. Ils ne comportent pas de granulations.

Ils poussent assez rapidement sur gélose S, et donnent une culture translucide et moirée qui se détache facilement de la gélose.

3me *espèce*. — GERME C :

Bacilles à Gram négatif, prenant assez facilement les colorants habituels.

Ces bacilles ont des dimensions analogues à ceux du germe A. Ils sont également à granulations, et peuvent même avoir une vacuole centrale non colorable.

Leur culture sur gélose S est formée par une multitude de petits points blancs se détachant très facilement de la gélose.

4me *espèce*. — GERME D :

Bacilles à Gram négatif, prenant très difficilement les colorants habituels. On obtient une coloration assez intense en les traitant par la fuschine phéniquée à chaud, pendant 15 minutes. Ces bacilles

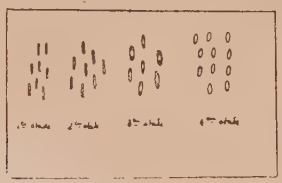
ont comme dimensions, environ 1 mu à 1,5 mu sur 0,5 mu. Ils présentent des granulations.

Ils donnent sur gélose S une culture en 24 heures. Cette culture est opalescente et translucide, donnant une pellicule qui se voit à peine. Cette culture se détache facilement de la gélose.

5me *espèce.* — GERME E :

Bacilles à Gram positif (mais se décolorant très facilement si on laisse l'alcool agir suffisamment). Ces bacilles prennent très facilement tous les colorants.

Leurs dimensions sont de 3 à 4 mu de longueur sur 1 mu environ de largeur. Cette forme bacille sur la gélose S se transforme



rapidement en une forme sporulée (en 24 à 48 heures). Le bacille donne l'impression de se vacuoler au centre, et finalement on obtient une forme terminale ressemblant à une spore (sans doute forme de résistance, lorsque le milieu nutritif est épuisé).

En étudiant à intervalles réguliers et assez rapprochés les cultures, on se rend compte du passage de l'une à l'autre forme. Cette culture sur gélose S, qui apparait au bout de la 10me heure est très abondante, blanchâtre et moirée. Elle se détache très facilement.

Sur bouillon S, le passage d'une forme à une autre est moins rapide, et les premières formes sporulées n'apparaissent qu'au bout de quelques jours.

Nous reverrons, dans les espèces qui vont suivre, des transformations analogues se produisant plus ou moins rapidement.

6me *espèce.* — GERME F :

Petits bacilles à Gram négatif, prenant assez facilement les colorants habituels.

Ces bacilles trapus ont une dimension de 0,6 mu sur 0,5 mu environ. Ils ressemblent presque à des cocci. Ils ne comportent pas de granulations.

La culture sur gélose S, obtenue entre 15 et 20 heures, est épaisse, blanchâtre, et gagne très rapidement toute la gélose.

7me *espèce.* — GERME I

Bacilles à Gram négatif, prenant très facilement tous les colorants. Ils ont comme dimensions : 3 à 4 mu de longueur, sur 1 mu de largeur.

Cette forme bacille sur gélose S se transforme assez rapidement (de 2 à 4 jours) en une forme sporulée, sans doute lorsque le milieu de culture est épuisé.

Le bacille se renfle à une extrémité (différence d'avec la forme E), pour donner également une forme sporulée, cette forme terminale ressemblant absolument à celle déjà obtenue avec E.

En examinant les cultures à des intervalles très rapprochés, on se rend compte du passage de l'une à l'autre forme.

La culture sur gélose, qui apparait au bout de la 15me heure environ, est épaisse, translucide et gluante. Elle se détache très facilement.

Sur bouillon S, le passage d'une forme à l'autre est moins rapide, et les premières formes sporulées n'apparaissent qu'au bout de quelques jours.

8me *espèce.* — GERME J (*Bacillus megaterium*) :

Gros bacilles trapus vacuolés au centre avec les deux extrémités colorées à Gram négatif.

Cette forme pourrait être confondue avec les formes sporulées précédemment décrites, mais les dimensions plus grandes, et le fait que ce bacille est à gram positif, permet de différencier les espèces.

La culture sur gélose S est abondante, pousse très rapidement, est blanchâtre et se détache facilement.

9me *espèce.* — GERME K (*genre THIOBACILLE*) :

Bacilles trapus à gram négatif, vacuolés au centre, ce qui leur donne l'impression d'une coupure en deux, le bord externe de la vacuole centrale se colorant très mal.

Ils ont comme dimensions : 2 à 3 mu sur 1 mu environ.

Ils prennent assez facilement les colorants habituels.

La culture sur gélose S est opalescente et translucide. Elle n'apparait qu'au bout de 30 heures environ. Elle est peu abondante et se détache facilement.

Ce sont des THIOBACILLES.

10me *espèce.* — GERME L (*genre THIOBACILLE*) :

Bacilles à Gram négatif longs et minces, prenant mal les colorants habituels.

Leur dimension est de 2 à 4 mu sur 0,3 mu environ.

Ils ont des granulations, et on voit chez certains une vacuole centrale. Ils donnent sur gélose S une culture translucide et très peu abondante, que l'on voit difficilement sur la gélose.

Ces microorganismes sont très fragiles, et semblent ne pouvoir vivre qu'en symbiose avec les autres bactéries de la Barégine.

Si on arrive, en effet, à les séparer, assez difficilement d'ailleurs, des autres germes, si on arrive à les cultiver une première fois sur gélose S, on ne peut les conserver vivants, et au bout de quelques jours, même en glacière, les cultures sont mortes et ne peuvent être réensemencées.

Sur milieu liquide (Bouillon S), la bactérie résiste mieux, semble-t-il, mais pousse assez difficilement, et ce n'est qu'au bout de quelques jours qu'un léger louche peut être aperçu dans le bouillon.

Il serait nécesaire de trouver un milieu spécial pour ces microorganismes. Ce problème dépassant le cadre de notre travail, nous n'avons pas essayé pour l'instant, de le résoudre.

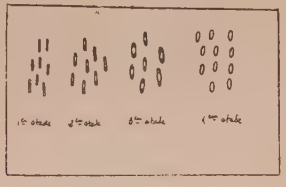
11me *espèce.* — GERME M :

Bacilles à Gram positif (mais se décolorant très facilement si on laisse l'alcool agir suffisamment).

Ces bacilles prennent très facilement tous les colorants.

Ils ont de 2 à 4 mu de longueur sur 1 mu environ de largeur.

Cette forme bacille sur gélose S se transforme rapidement en une forme sporulée (en 24 heures). Le bacille donne l'impression de se vacuoler au centre et, finalement, on obtient une forme termi-



nale ressemblant à une spore (sans doute forme de résistance quand le milieu n'est plus asez riche).

En étudiant à des intervalles assez rapprochés les cultures, on se rend compte du passage de l'une à l'autre forme.

La morphologie de ce germe semble donc être la même que celle déjà étudiée dans la 5me espèce.

Il en diffère cependant par ses cultures :

Sur gélose S : la culture apparait au bout de 10 heures environ. Elle est formée par des colonies blanc-jaunâtre visqueuses se détachant très difficilement de la gélose. Elles donnent une impression gluante, et si on essaie de les diluer dans de l'eau pour faire un étalement sur lame, ces colonies restent agglutinées et ne se dissocient que très difficilement.

Sur Bouillon S : En 24 heures ce germe donne un voile gluant visqueux à la surface du bouillon. Ce voile gagne tout le bouillon en trois jours, et on a alors l'impression d'avoir une matière albumineuse ressemblant à du blanc d'œuf.

Nous retrouvons là une ressemblance frappante avec les filaments de Barégine des eaux sulfureuses. Seule, la couleur en diffère, du fait sans doute qu'il n'y a pas de sels minéraux.

Le produit obtenu donne bien cette impression de « glairine », nom que les anciens auteurs donnaient à la barégine.

La transformation de la forme bacille en forme sporulée est moins rapide sur bouillon que sur gélose, du fait sans doute, que le milieu est plus riche et permet au microorganisme de se développer plus facilement.

Il nous faut indiquer ici qu'il a été très difficile d'obtenir ce germe à l'état pur, du fait qu'il sécrète cette matière mucilagineuse qui retient d'autres espèces microbiennes. Il nous a fallu faire des prélèvements nombreux directement au griffon contenant les barégines, pour arriver enfin à obtenir un germe pur.

Nous reviendrons plus loin sur ce microorganisme d'une façon plus détaillée.

12me *espèce.* — GERME N (*Bacillus subtilis*) :

Ce microorganisme est trop connu pour que nous en donnions ici les caractéristiques.

13me *espèce.* — GERME O (*Thiobacille*) :

Petits bacilles courts et trapus se vacuolant au centre, à Gram négatif. Ils prennent difficilement les colorants.

On obtient une bonne coloration en les traitant par la fuschine phéniquée à chaud, pendant 15 minutes.

La dimension de ces bacilles est d'environ 1 mu à 1,5 mu sur 1 mu.

Ils donnent sur gélose S une culture moirée abondante, se détachant très facilement de la gélose.

La vacuole centrale est réfringente et semble contenir du soufre.

Tels sont les 13 espèces de germes que nous avons pu isoler de la Barégine.

Tous, jusqu'à présent, n'ont pu encore être identifiés. Cette identification s'annonce comme difficile, et demandera certainement de longs mois.

Dans un travail ultérieur, nous pensons pouvoir mettre un nom sur tous ces microorganismes. Mais comme cela sort du cadre de

notre publication actuelle, nous avons cru pouvoir indiquer nos résultats avant que cette identification ne soit terminée.

CHAPITRE III

ETUDE DES PROPRIETES BACTERICIDES ET ANTIBIOTIQUES DES MICRO-ORGANISMES DE LA BAREGINE DES EAUX DE LUCHON

En possession des souches pures des 13 germes trouvés dans la Barégine, nous avons été amenés à chercher quels étaient ceux qui possédaient des propriétés bactéricides.

Les techniques employées ont été les suivantes :

a) *Action bactéricide :* Nous ensemençons dans un tube de bouillon S le germe dont on veut étudier l'action.

Dans un autre tube contenant du bouillon nutritif, nous ensemençons le microbe pathogène : Staphylocoque ou Streptocoque ou Colibacille.

Lorsque les germes et microbes pathogènes ont poussés dans leurs tubes respectifs, nous mélangeons les tubes contenant le germe et le microbe pathogène, et nous remettons à l'étuve.

On examine alors de temps en temps le milieu ainsi obtenu. S'il y a une action bactéricide, le microbe pathogène disparait de la culture au bout d'un temps plus ou moins long.

Si cette action n'existe pas, les 2 espèces en présence continuent à cultiver.

b) *Action antibiotique :* Sur boite de Pétri contenant de la gélose nutritive ordinaire, nous ensemençons du Staphylocoque ou Streptocoque ou Colibacille.

Au centre de la boite de Pétri ainsi ensemencée, nous déposons une parcelle de gélose sous jacente à une culture du germe dont nous recherchons le pouvoir antibiotique.

Si ce germe, en effet, sécrète un antibiotique, celui-ci pénètrera dons la gélose, et confèrera à celle-ci ses propriétés. Nous ne sommes pas génés alors par la présence des germes eux-mêmes qui ne traversent pas la gélose.

S'il y a un pouvoir antibiotique, tout autour de la parcelle de gélose, nous avons une zone (appelée zone d'inhibition), où le microbe pathogène ne pousse pas.

Nous avons fait ces essais avec tous les germes trouvés, et nous avons obtenu les résultats donnés dans le tableau ci-dessous :

	ACTION BACTÉRICIDE SUR :			ACTION ANTIBIOTIQUE SUR :		
	Staphylo.	Strepto.	Colibacille	Staphylo.	Strepto.	Colibacille
Germe A	Néant	Néant	Néant	Néant	Néant	Néant
— B	—	—	—	—	—	—
— C	—	—	—	—	—	—
— D	—	—	—	—	—	—
— E	—	—	—	—	—	—
— F	—	—	—	—	—	—
— I	—	—	—	—	—	—
— J	—	—	—	—	—	—
— K	—	—	—	—	—	—
— L	—	—	—	—	—	—
— M	Très forte	Forte	Nette	Forte	Forte	Nulle
— N	Nette	Nette	Nulle	Faible	Faible	Nulle
— O	Néant	Néant	Néant	Néant	Néant	Néant

Du tableau précédent, il ressort que sur les 13 germes trouvés dans la Barégine de Luchon, deux seulement ont une action bactéricide :

Le germe N (ou *Subtilis*) qui a une action faible.

Le germe M qui a une action très importante.

En ce qui concerne le Subtilis, cela ne fait que confirmer ce que nous savions déjà :

Le Subtilis sécrète, en effet, un antibiotique : la SUBTILISINE, produit qui n'est pas employé parce que toxique.

Nous ne nous ocuperons donc pas de ce dernier, son action étant d'ailleurs très faible, par rapport à l'autre germe.

ETUDE DU MICROORGANISME M :

Nous avons déjà vu que ce germe existait sous deux formes, la forme bacille et la forme sporulée, qui semble être la forme de résistance, lorsque le milieu ne contient plus les éléments nécessaires à la vie du bacille.

Il donne sur bouillon une culture offrant l'impression d'une matière filante et visqueuse, ressemblant à la Barégine.

Ce germe présente beaucoup de ressemblance avec le *Bactérium Viscosum* de DUFRENOY et R. MOLINÉRY (18), que ces auteurs ont trouvé dans la barégine des Eaux de Barèges. Ce microorganisme sécrète également une matière mucilagineuse qui vient entourer les éléments de *Thiothrix* pour donner la barégine.

C'est ce mucilage que nous retrouvons dans nos bouillons. Nous obtenons ainsi l'élément essentiel de la Barégine, puisque d'après ces auteurs, ainsi que d'après FOURMENT (24 et 28), c'est cette gaine mucilagineuse qui confère à la Barégine toutes ses propriétés.

Ces auteurs donnent de ce *Bactérium viscosum* une description absolument identique à celle que nous avons donnée. Cependant, ils lui confèrent deux caractères que nous n'avons pas retrouvés dans notre germe :

a) Leur *Bactérium viscosum* est à Gram négatif, alors que nous pouvons affirmer que le nôtre est à gram positif, mais qu'il se décolore facilement, si nous laissons agir l'alcool un peu trop longtemps.

b) Leur *Bactérium viscosum* coagule le lait, tandis que notre germe ne possède pas cette propriété.

Ce caractère du *B. viscosum* implique une modification du pH du milieu. Notre microorganisme, au contraire, ne modifie pas le pH du milieu où il vit.

A part ces différences, le microorganisme de DUFRENOY et MOLINÉRY possède les mêmes caractères que le germe que nous avons retrouvé dans la barégine de Luchon.

C'est un bacille très mobile, à granulations, qui en bouillon peut se grouper en streptobacilles très longs.

Il se reproduit pas scissiparité, mais lorsque le milieu nutritif est épuisé, il forme des spores par condensation protoplasmique.

au deux pôles très colorables, légèrement apiculés, libérées du bacille par chromatolyse.

Nous pouvons affirmer, comme TRABAUD le fait dans son remarquable travail « Sulfobactéries et Barégine » (47), que ce microorganisme est :

LE GERME SECRETEUR DE BAREGINE.

Si notre bactérie pousse au maximum sur les milieux indiqués précédemment (Gélose S et bouillon S), il faut noter toutefois qu'elle pousse également sur les milieux ordinaires : bouillon et gélose nutritive, ainsi que sur eau peptonée.

La température optima pour sa culture est 35 degrés.

Le pH le plus approprié est compris entre 8 et 8,5, mais ce germe pousse malgré tout sur des milieux dont les pH sont compris entre 5 et 9.

ROBINNE et DEJUSSIEU (44), ont indiqué en 1927, que la barégine de Barèges possédait des propriétés bactériolytiques et bactériophagiques, mais ils ne semblent pas les avoir étudiées.

Quoi qu'il en soit, il semble bien que notre microorganisme provenant de la barégine de Luchon, possède, lui aussi, ces propriétés bactéricides, et étant le seul élément de la Barégine à les posséder, nous pouvons dès maintenant affirmer que *c'est lui qui confère à la Barégine ses propriétés.*

Etant donné les quelques différences existant entre ce bacille trouvé à Luchon et le *Bactérium viscosum* de DUFRENOY et R. MOLINÉRY provenant de Barèges, nous avons pensé qu'il serait bon de donner à notre microorganisme un nom particulier.

Nous nommerons ce germe :

BACTERIUM LIXONENSE :

» *Bacterium lixonense bacillum est quod bacteriorum necandorum proprietatem habet, secretatque viscosum liquidum ex quo Lixonensis Baregina oritur.* »

TOXICITE DE BACTERIUM LIXONENSE :

Nous injectons à un cobaye 1 cm³ d'une culture de ce germe. L'animal ne présente aucune réaction ni locale ni générale.

Cette expérience ayant été faite plusieurs fois dans les mêmes conditions, nous décidâmes alors de faire sur nous même une semblable expérience.

Nous nous sommes injecté 1 cm³ d'une culture sur gélose émulsionné dans du sérum physiologique stérile (Injection sous cutanée faite dans la partie supérieure de la cuisse).

L'injection est légèrement douloureuse. Une légère douleur locale subsiste pendant quelque temps, mais sans aucune réaction générale.

En 48 heures tout est redevenu normal.

Ceci est donc la preuve de la *non toxicité absolue* de ce germe.

ACTION SUR LE STAPHYLOCOQUE DE BACTERIUM LIXONENSE :

PREMIERE EXPERIENCE : Dans un tube de bouillon nutritif ordinaire, on ensemence du Staphylocoque Londres, et on met à l'étuve à 37°.

Dans un autre tube contenant du bouillon S, on ensemence *Bacterium lixonense.* On met à l'étuve à 37°.

Au bout de 48 heures, les deux tubes contiennent une culture de chacun de ces germes. On mélange alors les deux tubes, et on remet à l'étuve.

Après 24 heures, le Staphylocoque a disparu. Il ne reste plus que *Bacterium lixonense.*

Dans ces conditions, les Staphylocoque est donc entièrement lysé en 24 heures par *Bacterium lixonense.*

DEUXIEME EXPERIENCE : Sur bouillon nutritif ordinaire, on ensemence du Staphylocoque Londres. On laisse pousser à l'étuve à 37° pendant 48 heures.

On ajoute alors dans ce bouillon une goutte d'une culture de *Bacterium lixonense.* On remet à l'étuve.

Après 24 heures : Il y a encore du Staphylocoque.

Après 48 heures : Le Staphylocoque a entièrement disparu.

L'action a été plus lente dans ce cas, car la quantité de culture de *Bacterium lixonense* ajoutée était infime.

TROISIEME EXPERIENCE : Dans un tube de bouillon nutritif on ensemence en même temps, une goutte de culture de Staphylocoque et une goutte de culture de *Bacterium lixonense*. On met à l'étuve.

Après 8 heures : Présence de rares staphylocoques.

Après 12 heures : Le Staphylocoque a complètement disparu.

Il semble donc que dans ce cas, notre microorganisme a empêché la pousse du Staphylocoque.

Dans ces trois expériences, le pH du milieu n'a pas été modifié.

ON PEUT DONC AFFIRMER QUE *BACTERIUM LIXONENSE* DETRUIT EN QUELQUES HEURES LE STAPHYLOCOQUE.

QUATRIEME EXPERIENCE : Nous avons voulu montrer d'une façon visible cette lyse du Staphylocoque par *Bacterium lixonense*.

Dans une boite de Pétri stérile, on coule de la gélose nutritive ordinaire. Après refroidissement, on ensemence cette gélose avec du Staphylocoque. On dépose alors sur cette gélose, 4 carrés de papier filtre stérile, ayant environ 1 cm².

Sur ces papiers, on laisse tomber : 1, 2, 3, 4 gouttes de culture de *Bacterium lixonense*.

On porte la boite de Pétri à l'étuve à 37°.

Après 24 heures : Le Staphylocoque a poussé sur toute la boite, sauf autour des carrés de papier filtre, où l'on voit une culture différente formée par *Bacterium lixonense*.

La zone où a poussé ce germe est d'autant plus grande que la quantité de culture mise sur les carrés de papier filtre a été plus élevée.

Après 48 heures : la culture des bactéries a augmenté de largeur, toujours proportionnellement à la quantité de culture mise en jeu. Au bout de quelques jours, la culture de *Bacterium lixonense* a envahi toute la boite lysant les staphylocoques (Voir photo n° 1).

Si on prélève juste à la limite bactéries-staphylocoques, une parcelle de culture, et qu'on l'examine au microscope, on se rend compte de l'action lysante des bactéries. Les staphylocoques sont entourés par grappes de 4 ou 5 cocci par des bactéries qui les détrui-

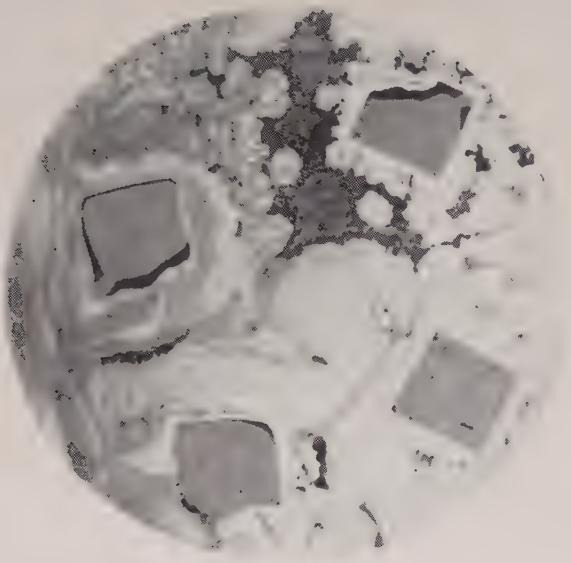


Photo I

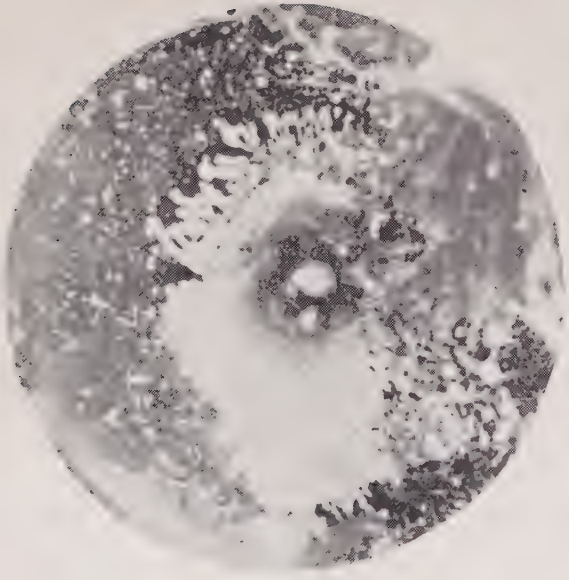


Photo II

sent complètement. Ce phénomène est très visible et, sur la même lame, on voit les différents stades de destruction, depuis le début de l'enveloppement des cocci jusqu'à leur disparition totale.

CINQUIEME EXPERIENCE : INJECTION SIMULTANÉE D'UNE CULTURE DE STAPHYLOCOQUES ET D'UNE CULTURE DE BACTERIUM LIXONENSE A UN COBAYE :

On injecte à un cobaye, 1 cm^3 d'une culture de Staphylocoque Londres, mélangée dans la seringue à 1 cm^3 d'une culture de *Bacterium lixonense.*

Le cobaye continue à vivre normalement sans présenter aucune réaction ni locale ni générale. « LA DESTRUCTION *IN VIVO* DU STAPHYLOCOQUE PAR *BACTERIUM LIXONENSE* EST AINSI DEMONTREE. »

SIXIEME EXPERIENCE . PRODUIT DE SECRETION.

Voyant les résultats obtenus dans les expériences précédentes, nous avons voulu nous rendre compte si le produit de sécrètion de ces microorganismes, cette « glairine » qui forme la gaine mucilagineuse entourant les éléments de *Thiothrix* de la Barégine, ne possédait pas, elle aussi, ces propriétés, et si nous ne pouvions pas obtenir, toutes choses égales d'ailleurs, un produit pouvant se rapprocher des antibiotiques employés actuellement en thérapeutique (Pénicilline par exemple).

D'après ce qui va suivre, nous pourrons affirmer que *Bacterium lixonense* donne un produit de sécrétion présentant une analogie plus ou moins lointaine, et des propriétés se rapprochant de ces antibiotiques.

Nous appelerons ce produit de secrétion :

LIXONASE.

Toutes les expériences que nous avons faites jusqu'à présent, ont été réalisées avec la gélose sous jacente aux cultures de *Bacterium lixonense*, cette gélose s'imprégnant de cette sécrétion.

Nous n'avons pu, en effet, jusqu'à présent, obtenir à l'état pur ce produit de sécrétion.

Sur une boite de Pétri ensemencée de Staphylocoque Londres, nous disposons au centre une parcelle de gélose sous jacente à une culture de *Bacterium lixonense.*

On porte à l'ètuve à 37°, et au bout de 24 heures, on aperçoit au centre de la boite de Pétri, tout autour de la parcelle de gélose, *une zone absolument vierge.*

Le diamètre de cette zone d'inhibition varie selon la grosseur de la parcelle mise en jeu.

Si nous faisons une comparaison avec une boite de Pétri ensemencée de staphylocoques, et au centre de laquelle on a mis dans un cylindre de Heatley une solution de pénicilline, on peut déterminer en unités de Pénicilline, le pouvoir antibiotique de cette lixonase.

C'est ainsi que nous avons trouvé qu'une parcelle de gélose de 1/20 de cm^3 environ avait sensiblement le même pouvoir que 10 unités de pénicilline.

Si nous laissons à l'étuve pendant plusieurs jours, cette zone d'inhibition demeure avec une netteté encore plus grande, du fait que la culture de Staphylocoque s'épaissit tout autour (Voir photo n° 2).

Nous avons repris ces expériences de nombreuses fois, toujours avec le même résultat.

ACTION SUR LE STREPTOCOQUE DE BACTERIUM LIXONENSE :

Nous avons obtenu des résultats sensiblement semblables à ceux précédemment indiqués.

ACTION SUR LE COLIBACILLE DE BACTERIUM LIXONENSE :

Nous avons repris ces mêmes expériences avec le Colibacille, microbe qui s'est montré réfractaire jusqu'à présent à presque tous les antibiotiques.

PREMIERE EXPERIENCE : Dans un tube de bouillon nutritif, on ensemence du Colibacille, et on porte à l'étuve à 37 degrés.

Dans un autre tube contenant du bouillon S, on ensemence *Bacterium lixonense,* et on porte à l'étuve.

Au bout de 48 heures, on mélange les deux cultures, et on remet à l'étuve.

Ce n'est que 4 jours après, que le Colibacille a complètement disparu.

L'action de la bactérie, quoique moindre que pour le Staphylocoque, est donc malgré tout très nette.

DEUXIEME EXPERIENCE : Sur bouillon nutritif, on ensemence simultanément, une goutte de culture de Colibacille et une goutte de culture de *Bacterium lixonense.*

Après 3 jours, on ne retrouve plus de Colibacille.

TROISIEME EXPERIENCE : Sur une boite de Pétri, contenant de la gélose nutritive, nous ensemençons du Colibacille. Nous disposons 4 petits carrés de papier filtre sur lesquels nous laissons tomber 1, 2, 3, 4 gouttes de culture de *B. lixonense.* On porte à l'étuve à 37°.

Après 24 heures, le Colibacille a poussé partout, sauf autour des carrés de papier filtre, où l'on voit une culture différente formée par du *B. lixonense.* La zone où a poussé ce germe est d'autant plus grande que la quantité de culture mise en jeu a été plus élevée.

Ces cultures de *B. lixonense* augmentent peu à peu de surface, détruisant les colibacilles qui se trouvent à la limite de la culture.

L'action lysante se fait comme pour le Staphylocoque. Les colibacilles sont entourés par les bactéries et digérés par elles.

QUATRIEME EXPERIENCE : ACTION DU PRODUIT DE SECRETION :

ACTION NULLE : Nous n'avons jamais pu avoir une zone d'inhibition.

Tout en étant obligé de constater pour l'instant que la lixonase n'agit pas sur le Colibacille, nous n'abandonnons pas la question, et nous pensons, malgré tout, obtenir dans l'avenir des résultats vis-à-vis de ce microbe.

CONCLUSION

Avant de clore ce chapitre, nous voudrions indiquer que nous avons fait des essais pour obtenir à l'état pur la sécrétion de *Bacterium lixonense,* la *lixonase.*

L'usage des filtres en porcelaines poreuses retenant les bactéries a du être rejeté, du fait que la matière visqueuse secrétée ne peut traverser les pores de la bougie filtrante.

Nous avons constaté que la chaleur ne détruisait pas le pouvoir antibiotique de nôtre substance sécrétée.

Nous portons donc notre culture à l'autoclave à 120° pendant 10 minutes, tuant ainsi les germes ; nous centrifugeons et, après avoir lavé le précipité plusieurs fois à l'eau distillée, nous obtenons une substance à propriétés antibiotiques élevées.

Son pouvoir est tel que, dans les proportions de 1/150.000 de produit sec, elle inhibe complètement le Staphylocoque Londres.

Mais ce produit est encore impur ; aussi à l'heure actuelle, nous continuons ces travaux en relation avec l'Institut Pasteur, afin d'obtenir une substance absolument pure à pouvoir antibiotique encore plus élevé.

Nous espérons ainsi pouvoir, dans l'avenir, apporter à la thérapeutique un nouvel agent de traitement, susceptible de donner des résultats intéressants.

Avant de terminer, nous soulignerons que l'action bactéricide de *Bacterium lixonense* est beaucoup plus intense que celui de la Barégine. En effet, il détruit en quelques heures le Staphylocoque, tandis que la Barégine met trois jours pour arriver à ce même résultat.

Enfin nous noterons également que *Bacterium lixonense* et sa sécrétion, la lixonase, ne sont pas toxiques.

Dans un ordre d'idée beaucoup plus général, nous croyons pouvoir affirmer que ce produit de sécrétion, partiellement soluble dans les eaux sulfureuses, confère aux eaux de Luchon certaines de leurs propriétés, et en particulier leur action microbicide et leur onctuosité.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous espérons avoir apporté, grâce à ce travail, une modeste contribution à l'étude et à la connaissance des propriétés des Eaux sulfureuses :

Les phénomènes de Phylaxie et d'Anagotoxie sont d'un intérêt indiscutable. Ils doivent permettre, en effet, sous l'action des Eaux sulfureuses, l'absorption plus intense de certains médicaments toxiques.

L'étude des injections d'eau de Luchon que nous avons faite ensuite, permettra justement cette absorption. Mais il faut également envisager ces injections d'eau de Luchon comme complément de la cure thermale, les quelques essais qui ont été faits, en particulier dans les cas de rhumatismes, ayant donné des résultats concluants.

L'étude physico-chimique que nous avons faite sur les Aérosols d'Eau sulfureuse de Luchon, apportera, nous l'espérons, quelques lumières sur ce sujet tout nouveau en thérapeutique thermale.

Mais nous nous permettrons d'insister tout particulièrement sur la dernière partie de notre travail, qui n'est d'ailleurs qu'une ébauche d'un sujet demandant des études très approfondies que nous avons l'intention de poursuivre par la suite.

Nous pensons avoir démontré qu'une partie des propriétés des eaux de Luchon (en particulier leur propriété microbicide) provient d'un micro-organisme que nous avons dénommé *Bacterium lixonense,* lequel germe est le micro-organisme secréteur de Barégine.

Nous pensons également que les propriétés bactéricides de ce germe, ainsi que les propriétés antibiotiques de sa sécrétion que nous avons appelé Lixonase, sont d'un grand intérêt.

Nous sommes persuadé que dans l'avenir, ce produit pourra apporter à la thérapeutique, une arme supplémentaire pour combattre les maladies microbiennes.

Le Président de Thèse,

V. BRUSTIER

Vu : *Le Doyen,*

J. CALVET

Vu et permis d'imprimer

Toulouse, le 7 mai 1947

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université,

P. DOTTIN

Questions données par la Faculté

1. Rôle des acides nucléiques dans la constitution et la multiplication des cellules bactériennes.
2. Les phénomènes d'oxydo-réduction en Biologie.
3. La gramicidine.

BIBLIOGRAPHIE

1. Billard. — Pouvoir anagotoxique du sulfate de spartéïne sur le venin des vipères. — *C.R. Soc. Biol.* XCIV 1926, 13 mars.
2. Billard. — Pouvoir anagotoxique des Eaux de la Bourboule et du Mont-Dore sur le sulfate de spartéïne. — *C.R. Soc. Biol.* XCIV 1926, 17 avril.
3. Billard. — Pouvoir anagotoxique des Eaux de Chatelguyon sur le venin de vipère. — *C. R. Soc. Biol.* XCIV, 1926, 1er mai.
4. Billard. — Pouvoir anagotoxique in-vitro des Eaux minérales d'Auvergne sur la toxine tétanique. — *C. R. Soc. Biol.* XCIV, 1926, 15 mai.
5. Billard. — Pouvoir anagotoxique in-vivo des Eaux de la Bourboule sur la toxine tétanique. — *C. R. Soc. Biol.* XCV, 1926, 5 juin.
6. Billard. — Pouvoir anagotoxique in-vivo et in-vitro des Eaux de St-Nectaire sur la toxine diphtérique. — *C. R. Soc. Biol.* XCV, 1926, 12 juin.
7. Billard. — Pouvoir anagotoxique de quelques eaux minérales d'Auvergne sur certaines neurotoxines. — *Presse Médicale,* 1927, 26 janvier.
8. Billard. — Phylaxie non spécifique et immunité spécifique. — *C. R. Soc. Biol.* XCVI, 1927, 26 février.
9. Billard. — Phylaxie par certaines eaux minérales. — *Progrès médical,* 4 mai 1927, page 731.
10. Billard. — La phylaxie. — *Journal de Physiol. et Pathol. gén.* mars 1928.
11. Billard. — La Phylaxie. — Doin, éditeur, Paris 1931.
12. Brun et Pauthenier. — Détermination des caractéristiques essentielles des nuages et des brouillards à l'aide d'un champ électrique. — *La Météorologie,* janv.-juin 1943.

13. Busquet et Vischniac. — Sur l'existence d'une action modératrice de la strychnine et de la brucine sur la moëlle. — *Presse médicale*, n° 57 du 16 juillet 1938.

14 Bustinza-Lachiondo. — Les Antibiotiques microbiens et la Pénicilline. *Presse française et étrangère.* — Oreste Zeluck, éditeur, Paris 1946.

15 Cazaux (P.). — Contribution à l'étude du soufre dans les eaux de Barèges. — *Thèse Doctorat* (Pharmacie). — Bordeaux. 1928.

16 Dautrebande. — *Aérosols médicamenteux.* — Doin, éditeur, Paris, 1946. — Cet ouvrage comporte toute la bibliographie des aérosols jusqu'en 1946.

17 Dodel. — Données expérimentales relatives aux phénomènes de Phylaxie. — *Thèse Doctorat* (Sciences). — Lyon, 1929.

18 Dufrenoy et R. Molinéry. — Contribution à une nouvelle étude des Barégines. — *Gazette des Eaux*, Août 1929.

19 Dufrenoy et R. Molinéry. — Contribution à l'étude du blanchiment des Eaux de Luchon. — *Revue de Pathologie comparée*, Novembre 1920.

20 Ferreyrolles. — La Phylaxie et les eaux minérales. — *Ann. Soc. Hydr.* — 17 mars 1930.

21 Filhol. — Analyse des eaux minérales de Barèges. — *Ann. de la Société d'hydrologie médicale de Paris* IX 1863.

22 Fleig. — Les Eaux minérales milieux vitaux. — Maloine, éditeur, Paris, 1909.

23 Fontan. — Recherche sur les Eaux minérales des Pyrénées, de l'Allemagne, de la Suisse et de la Savoie. — 1853.

24 Fourment (P.). — La Barégine des Eaux sulfurées sodiques de Barèges. — *Thèse de Doctorat* (Médecine). — Bordeaux, 1921.

25 Glenard. — Injection d'Eau de Vichy Grande Grille à un malade présentant des symptomes de Neurasthénie hépatique paludéenne. — *Soc. d'Hydrologie*, 1899.

26 Izard et Pinat. — Etude du pouvoir bactéricide des Eaux de Barèges. — Toulouse, 1926.

27 Jacquot et Willm. — Les Eaux Minérales de la France. — 1894.

28 Journées de la Barégine. — *Journal de Barèges*, 1923. — Rapports de MM. Lorrain, Fourment, Dufrenoy, R. Molinéry, Caujolle, Rebierre, Sabatier, Massy, Trabaud, Salgues.

29 Lenard. — Uber Wasserfall Elektrizitat. — *Annalen des Physik*. XLVII, 1915.

30 Lepape. — Relations entre la radioactivité, la température et la sulfuration des sources de Bagnères de Luchon. — *C. R. Acad. des Sciences*, CLXXVI, 1923, page 1908.

31 Massy. — Sur l'altération des Eaux sulfureuses de Barèges. — *Annales Institut Hydrologie et Climatologie*. — Tome VI, n° 2, 1929.

32 Matruchot et Desroches. — Sur la végétation des Eaux sulfureuses de la pièce d'Eau des Suisses à Versailles. — *C. R. Soc. Biol.*, 1913, page 611.

33 Matruchot et Desroches. — Etude sur les mauvaises odeurs dégagées par la pièce d'eau des Suisses. Paris, Colin édit., 1913.

34 Muller. — Métabolic réactions of Thiobactériacées with organiques substances. — *Arch. of Mikro.* 1933.

35 Niel. — Morphology and Physiology of the purple and green sulphurbactéria. — *Arch. of Mikro.* 1932.

36 Niel. — On the métabolisme of the Thiobactériacées. — *Arch. of Mikro.* 1933.

37 Perrin et Cuenot. — Essai d'interprétation du pouvoir anagotoxique des Eaux de Bussang vis-à-vis du sulfate de spartéine. — *C. R. Soc. Biol.* 1929, n° 34.

38 Perrin et Cuenot. — Contribution à l'étude du pouvoir anagotoxique des eaux minérales. — *C. R. Soc. Biol.* 1926, n°.36.

39 Perrin et Cuenot. — Pouvoir anagotoxique des eaux minérales et chimiothérapie. — *Presse médicale*, XXXVIII, 1930, n° 38.

40 Perrin et Cuenot. — Anagotoxie des eaux minérales. — *Presse thermale et climatique*, 1er février 1932.

41 Perrin et Cuenot. — La Phylaxie de Billard et les propriétés connexes des Eaux minérales. — XIVme *Congrès d'Hydrologie de climatologie et de géologie médicale*. — Compte rendu page 401-403.

42 Puech et Roche. — Propriétés agotoxiques de quelques eaux minérales vis-à-vis du Novarsenobenzol. — *Ann. Soc. d'Hydrologie*, LXXVIII, n° 7, 1936-1937, page 267-277.

43 Ricard. — Contribution à l'étude des Eaux de Luchon. Recherche expérimentale de leur action au cours des Phénomènes d'anaphylaxie. — *Thèse Doctorat* (Médecine). — Lyon, 1923

44 Robinne et Dejussieu. — La substance active des Eaux de Barèges. — *C. R. Soc. Biol.* — XCVII, 1927.

45 Roche. — Contribution à l'étude du pouvoir agotoxique et phylactique de quelques eaux minérales. — *Thèse Doctorat.* — Montpellier, 1936.

46 Société de Thérapeutique et de Pharmacodynamie. — Rapports et communications sur les aérosols en Thérapeutique. — Octabre 1946.

47 Trabaud. — Sulfobactéries et barégines. — *Thèse doctorat* (Pharmacie). — Montpellier, 1928.
Cet ouvrage comporte toute la bibliographie des travaux parus sur la barégine jusqu'en 1927.

48 Violle. — Du rôle des colloïdes dans le pouvoir anagotoxique des Eaux minérales. — *C. R. Soc. Biol.* XCIX 1928, n° 35.

49 Violle et Giberton. — Du rôle des cristalloïdes dans le pouvoir anagotoxique des eaux minérales. — *C. R. Soc. Biol.* XCIX, 1928, 22 décembre.

50 Violle et Giberton. — Les eaux minérales, milieu antitoxique. *Presse Médicale*, 20 juillet 1929.

IMPRIMERIE MÉNARD
TOULOUSE-FONTAINEBLEAU